

616.921
Sul
2



**AKTIVASI LIMFOSIT PADA PREPARAT DARAH
HAPUS PENDERITA DEMAM BERDARAH
DENGUE**

dr. ENDANG SULISTYOWATI

THESIS

**Disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar brevet
Dokter Spesialis Anak Program Pendidikan Dokter Spesialis I**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I FAKULTAS
KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2003**

Penelitian ini dilakukan di Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas
Diponegoro sebagai salah satu syarat memperoleh sebutan Dokter Spesialis Anak

HASIL DAN ISI PENELITIAN MERUPAKAN HAK MILIK BAGIAN ILMU
KESEHATAN ANAK FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG

Disetujui untuk diajukan

Semarang, 4 September 2003

Mengetahui

Kepala Bagian IKA FK UNDIP



dr. Kamilah Budhi Rahardjani, SpAk

NIP 130.354.868



Ketua Program Studi PPDS I
IKA FK UNDIP



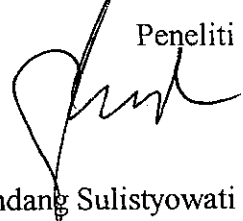
dr. Hendriani Selina, SpA, MARS

NIP. 140.090.354

1. JUDUL PENELITIAN : Aktivasi Limfosit Pada Preparat Hapus Penderita Demam Berdarah Dengue (DBD).
2. RUANG LINGKUP : Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UNDIP/ SMF Kesehatan Anak RS Dr. Kariadi
3. PELAKSANA : Nama : dr. Endang Sulistyowati
Jabatan: Peserta PPDS I IKA, FK UNDIP
4. PEMBIMBING : - Prof. DR. dr.AG Soemantri, SpAK
- DR. dr. Harsoyo Notoatmodjo, SpAK
- Dr. Herawati Yuslam, SpAK
- Drg. Henry Setiawan, MSc
5. SUBYEK PENELITIAN : penderita DBD
6. LOKASI : Bangsal infeksi, HND dan PICU RSDK Semarang.
7. LAMA PENELITIAN : 9 bulan.
8. BIAYA PENELITIAN : Rp. 1.600.000,-
9. SUMBER BIAYA : sendiri.

Semarang, Agustus 2003

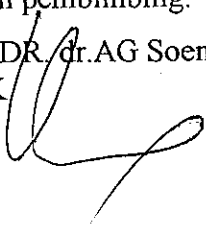
Peneliti



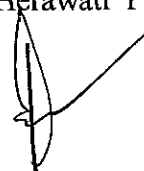
dr. Endang Sulistyowati

Disetujui oleh pembimbing:

1. Prof. DR. dr.AG Soemantri,
SpAK



3. Dr. Herawati Yuslam, SpAK



2. DR. dr. Harsoyo Notoatmodjo,
SpAK



4. Drg. Henry Setiawan, MSc



KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Tuhan YME karena kami telah menyelesaikan penelitian berjudul "Aktivasi limfosit Pada Preparat Hapus Penderita Demam Berdarah Dengue" sebagai syarat tugas akhir menyelesaikan Program Pendidikan Spesialis I Bidang Ilmu Kesehatan Anak di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada berbagai pihak yang mendukung hingga terlaksananya penelitian ini. Ucapan terima kasih dan penghargaan kami sampaikan kepada dr Tatty Ermin S, SpAK selaku ketua tim penelitian DHF kerjasama Indonesia Belanda yang telah mengijinkan kami untuk ikut dalam penelitian ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. dr. AG Soemantri , SpAK, Ssi atas bimbingan, dorongan semangat, saran dan limpahan ilmu sehingga peneliti dapat menyelesaikan tugas penelitian ini. Juga kepada Dr. dr. Harsoyo Notoatmodjo, SpAK, DTM&H, dr Herawati Yuslam SpAK dan drg Henry Setiawan selaku pembimbing penelitian, atas segala bimbingan, petunjuk dan bantuan selama penyusunan penelitian ini.

Penghargaan dan ucapan terimakasih yang tak terhingga kami sampaikan kepada yang terhormat para guru besar saya Prof. dr. Moelyono SpAK, Prof. Dr. dr. Lydia Kosnadi, SpAK, Prof. Dr Haryono Suyitno SpAK, Prof. Dr. dr. AG Soemantri , SpAK, Ssi, Prof. Dr. dr. I.Sudigbia, SpAK , serta para guru saya Dr. dr. Harsoyo Notoatmodjo, dr. Anggoro DBS, DTM&H, SpAK, dr. Soetadji N, SpA, dr. Kamilah Budhi R, SpAK, dr.Budi Santoso, SpAK, dr Sidhartani Z, MSc, SpAK, dr. Rochmanadji, SpAK, MARS, dr Tjipta Bahtera, SpAK, dr Moedrik Tamam, SpAK, dr Sholeh Kosim, SPAK, dr. Rudy Susanto, SpAK, dr. I.Hartantyo, SpA, dr Herawati Yuslam SpAK, dr. PW Irawan, MSc, SpAK, dr

Hendriani Selina, SpA, Mars, dr JC. Susanto, SpAK, dr. Agus Priyatno, SpAK, dr, Dwi Wastoro, SpAK, dr. Asri Purwanti, SpAK, dr. Bambang Sudarmanto, SpAK, dr. Elly Deliana, SpA, dr. MMDEAH Hapsari, SpA, dr, Alifiani Hikmah, SpA, dr. Ismail Sangadji, SpA, yang telah memberi bimbingan dan limpahan ilmu selama penulis mengikuti program PPDS I bidang Ilmu kesehatan Anak FK UNDIP Semarang.

Terima kasih secara khusus kami sampaikan kepada dr. Kamilah Budhi Rahardjani, SpAK selaku Ketua Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UNDIP/SMF Kesehatan Anak RSUP Dr. Kariadi Semarang. Terima kasih juga kami tujukan kepada dr .Hendriani Selina, SpA, MARS selaku ketua program studi PPDS I IKA FK UNDIP Semarang.

Terimakasih juga kepada ATA Mairuhu, Van Gorp, dan DPM Brandjes dari Department of Internal Medicine, Academic Medical Centre Slotervaart Hospital, Amsterdam, serta Penelope Koraka dari Department of Virology Academic Hospital Rotterdam atas hubungan dan kerjasama hingga selesainya penelitian ini.

Ucapan terima kasih juga kami tujukan pada Prof. Ir Eko Boediharjo MSc selaku Rektor Universitas Diponegoro periode 1998 sampai sekarang yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Bidang Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Terima kasih juga penulis sampaikan kepada Dr. Anggoro DB Sachro, DTM&H, SpAK selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro pada periode 1996 sampai 2002 dan Prof. dr. Kabulrachman, SpKK selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro pada periode 2002 sampai sekarang, yang karena ijinnya maka kami dapat belajar di Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UNDIP/SMF Kesehatan Anak RSUP Dr. Kariadi ini.

Peneliti menyampaikan ucapan terima kasih kepada Dr. Sulaiman, SpA, MKes, selaku Direktur RSUP Dr. Kariadi Semarang periode 1996 –2000 dan kepada Dr. Gatot Suharto, MARS, selaku Direktur RSUP Dr. Kariadi Semarang periode 2000 sampai sekarang yang telah memberi kesempatan kepada peneliti mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I di Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UNDIP/SMF Kesehatan Anak RSUP Dr. Kariadi Semarang.

Terima kasih kami sampaikan kepada seluruh teman sejawat baik yang telah menyelesaikan pendidikan maupun yang sedang mengikuti Pendidikan Dokter Spesialis I Bagian /SMF ilmu Kesehatan Anak FK UNDIP RSUP Dr. Kariadi Semarang, peneliti mengucapkan terima kasih atas bantuan dan kerja samanya selama ini. Kepada segenap para medis dan karyawan Bagian /SMF Kesehatan Anak FK UNDIP RSUP Dr. Kariadi Semarang serta semua pihak yang telah membantu dalam proses penyelesaian penelitian ini serta selama peneliti mengikuti pendidikan, kami mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya.

Tak lupa terima kasih juga kami ucapkan kepada para pasien yang dirawat yang telah bersedia menjadi sampel dalam penelitian ini, saya mengucapkan banyak terima kasih, karena tanpa bantuanmu penelitian ini tidak dapat saya selesaikan.

Terima kasih tak terhingga penulis sampaikan kepada suami tercinta Ir. Dhodit LA Wardhana, MM anak-anak tercinta Dhaneswara SW, Bimandhika SW, Pradipta LW yang memberikan pengertian, dorongan, kesabaran dan pengorbanan selama peneliti mengikuti pendidikan ini. Tak lupa kepada Ayahanda, Ibunda dan ibu mertua yang telah memberikan semangat dan doa selama peneliti mengikuti pendidikan dan menyelesaikan penelitian.

Akhir kata peneliti merasa bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna oleh karena itu segala kritik saran dan masukan akan kami terima dengan senang hati demi perbaikan di masa yang akan datang.

Semarang, September 2003

Peneliti

DAFTAR ISI

	Halaman
Lembar pengesahan.....	i
Kata Pengantar.....	ii
Daftar Isi.....	vi
Daftar Tabel.....	viii
Daftar Gambar.....	ix
Abstrak.....	x
Bab I. Pendahuluan	
A. Latar Belakang	1
B. Masalah Penelitian.....	2
C. Hipotesis.....	2
D. Tujuan Penelitian.....	2
E. Manfaat Hasil Penelitian.....	3
Bab II. Tinjauan Pustaka	
A. Batasan.....	4
B. Angka Kejadian.....	4
C. Diagnosis	
D.1. Klinis dan Laboratoris.....	4
D.2. Serologis	5
D.3. Isolasi Virus.....	6
D. Patofisiologis	6
E. Patogenesis	
Respon imun pada infeksi DBD.....	7
Respon seluler pada infeksi DBD	9
F. Aktivasi Limfosit	10
G. Kerangka Teori	11
H. Kerangka Konsep	12

Bab III. Metode Penelitian

1. Desain Penelitian.....	13
2. Tempat dan Waktu Penelitian.....	13
3. Populasi Penelitian.....	13
4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	13
5. Pengumpulan Data.....	14
6. Analisa Data.....	15
7. Definisi Operasional.....	15
8. Rancangan Penelitian.....	17
9. Orisinalitas.....	17
10. Jadwal Pelaksanaan.....	17

Bab IV. Hasil Penelitian

A. Karakteristik Sampel	18
B. Aktivasi limfosit.....	23
C. Aktivasi limfosit dalam hubungan dengan patogenesis DBD.....	28

Bab V. Pembahasan.....33.

Bab VI. Kesimpulan dan Saran.....39

Daftar Pustaka.....40

Lampiran

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Frekuensi penderita yang mengalami peningkatan aktivasi limfosit menurut lama hari sakit.....	23
Tabel 2. Rerata dan simpang baku jumlah limfosit teraktivasi hari 0, 2,7	24
Tabel 3. Aktivasi limfosit pada penderita SSD dan non SSD.....	25
Tabel 4. aktivasi limfosit penderita non SSD dan SSD menurut kelompok umur	26
Tabel 5. Aktivasi limfosit menurut status gizi	27
Tabel 6. Rerata , nilai tengah dan simpang baku bentuk limfosit hari 0, 2,7	27
Tabel 7. Hubungan peningkatan aktivasi limfosit dengan hemokonsentrasi.....	29
Tabel 8. Hubungan aktivasi limfosit dengan efusi pleura	30
Tabel 9. Hubungan aktivasi limfosit dengan trombositopeni.....	31
Tabel 10. Hubungan aktivasi limfosit dengan penurunan kadar fibrinogen.....	32

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Sebaran penderita DBD / SSD menurut jenis kelamin.....	18
Gambar 2. Sebaran menurut golongan umur pada non SSD dan SSD.....	18
Gambar 3. Sebaran penderita DBD / SSD menurut status gizi.....	19
Gambar 4. Rerata lama sakit pada hari perawatan 0	19
Gambar 5. Jumlah sampel yang sudah mendapatkan terapi sebelumnya.....	20
Gambar 6. Kadar hematokrit hari 0,2,7 pada non SSD dan SSD.....	21
Gambar 7. Kadar trombosit hari 0,2,7 pada non SSD dan SSD.....	22
Gambar 8. Kadar fibrinogen hari 0,2,7 pada non SSD dan SSD.....	22
Gambar 9. Sebaran penderita yang mengalami efusi pleura.....	23
Gambar 10. Diagram rerata jumlah limfosit teraktivasi pada SSD dan non SSD.....	24
Gambar 11. Kurva ROC jumlah limfosit teraktivasi hari perawatan 0 pada penderita SSD dan non SSD.....	24
Gambar 12. Jumlah limfosit teraktivasi hari 0, 2,7 menurut kelompok umur	25
Gambar 13. Rerata jumlah limfosit teraktivasi hari 0, 2,7 menurut status gizi pada penderita SSD dan non SSD.....	26
Gambar 14. Hubungan bentuk aktivasi limfosit pada hari 0,2,7 pada penderita non SSD dan SSD.....	28
Gambar 15. Sebaran dan nilai tengah kadar hematokrit menurut peningkatan aktivasi limfosit pada hari 0,2 dan 7.....	28
Gambar 16. Sebaran dan nilai tengah PEI menurut peningkatan aktivasi limfosit pada hari 0,2 dan 7.....	29
Gambar 17. Sebaran dan nilai tengah kadar hematokrit menurut peningkatan aktivasi limfosit pada hari 0,2 dan 7.....	30

Gambar 18. Sebaran dan nilai tengah kadar fibrinogen menurut peningkatan aktivasi limfosit pada hari 0,2 dan 7.....	31.
Gambar 19. Hubungan aktivasi limfosit dengan kadar hematokrit, trombosit dan fibrinogen.....	32
Gambar 20. Aktivasi limfosit bentuk blastoid, monositoid dan plasmositoid	35

ABSTRAK

Tujuan. Mengetahui proses aktivasi limfosit yang dilihat melalui gambaran limfosit di darah tepi pada penderita DBD/SSD.

Desain. Penelitian memakai pendekatan belah lintang dengan pengamatan selama periode 7 hari perawatan.

Metode. 50 anak dengan diagnosis klinis DBD menurut kriteria WHO yang dirawat mulai Juli 2001 masuk dalam penelitian. Konfirmasi diagnosis DBD memakai pemeriksaan serologi dengan uji ELISA. Pengambilan darah untuk pemeriksaan laboratorium dan darah apus tiap pasien dikerjakan pada hari 0,2,dan 7 perawatan. Preparat apus dicat dengan giemsa, pembacaan dilakukan pada zone 6 dan dihitung dalam 100 lekosit. Perubahan bentuk dan jumlah dinilai dan dibandingkan antara penderita SSD dan DBD non syok. Dilihat juga perubahan nilai parameter hemostasis pada penderita dengan peningkatan aktivasi limfosit.

Hasil. Dari 50 pasien terdapat 27 anak dengan SSD and 23 dengan DBD non syok. Terdapat 2 anak meninggal pada perawatan hari ke-2 akibat komplikasi DIC dan syok yang berkepanjangan. Jumlah aktivasi limfosit meningkat lebih tinggi pada penderita SSD dibanding non SSD ($p < 0,05$), dengan titik potong menurut kurva 4,5% (RR 5,3, interval kepercayaan 95% 1,85 – 15,37). Peningkatan aktivasi limfosit tertinggi didapatkan pada hari perawatan ke-2 dan cenderung turun ke normal pada hari ke-7. Perubahan bentuk limfosit yang teraktivasi menyerupai bentuk plasmosit, monosit dan blastosit, tetapi tidak didapatkan hubungan bermakna dengan derajat DBD.

Kesimpulan. Proses aktivasi limfosit meningkat lebih tinggi pada penderita SSD dibanding non SSD. Diperlukan penelitian lebih lanjut menggunakan parameter mediator-mediator kimia untuk membuktikan aktivasi limfosit pada penderita DHF.

ABSTRACT

Objective. To understand the activation process of lymphocytes in peripheral blood smears of DHF / DSS patients.

Design. Cross sectional study which observation in 7 days admission.

Methode. 50 children with clinical suspicion of DHF admitted at Dr. Kariadi General Hospital commencing July 2001 were studied. The clinical diagnosis of DHF was confirmed by serological assay. The periferal blood smear were taken from every patient on day 0,2 and 7 and the lymphocytes activation on zone 6th were examined. The total amount and morfological changes were compared between DHF and DSS patient. We also note the value of hemostasis changes according to the increasing number of activated lymphocytes.

Result. From 50 patient there are 27 children with DSS and 23 DHF non shock. Two patients died on day 2 admission due to DIC and profound shock. The total amount of activated lymphocytes were incresad significantly on DSS patients compared with non DSS patients ($p < 0,05$), with cut off point according to ROC curve was 4,5% (RR 5,3, CI 95% 1,85 – 15,37). The maximum increased that activated lymphocytes happened on day 2 and tend to decrease on day 7 admission. The morfology of activated lymphocyte changed into blastoid, plasmositoid and monositoid form but didn't have any correlation with severity of the disease. Among this population, undernourished and young children (between 3-6 years old) with DSS seems have more relative risk to suffer lymphocytes activation higer than the others.

Conclusion. The process of lymphocytes activation was increased higher in DSS compared with non DSS patients. Further study should be done using more indicator such as IL-8, IL-10 and IL-13 to prove the lymphocyte activation in DHF patients.

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) masih merupakan masalah kesehatan masyarakat di Indonesia karena kecenderungan jumlah penderita yang terus meningkat serta penyebaran penyakit yang makin meluas. Akibat peningkatan morbiditas dan mortalitasnya di banyak negara di seluruh dunia, menjadikan DBD menduduki ranking tertinggi diantara kegawatan penyakit infeksi. Selain itu meski sudah dikenal sejak 30 tahun yang lalu sampai saat ini belum ditemukan pengobatan definitif maupun pencegahan (vaksinasi) DBD yang efektif.^{1,2}

Beberapa teori mengenai patogenesis DBD masih terus berkembang. Bharamapravati (1976) mengemukakan bahwa pada DBD terjadi kerusakan sel pejamu oleh virus melalui proses imunologik. Peningkatan imunoglobulin, aktivasi komplemen, terbentuknya kompleks imun dan penurunan jumlah limfosit T merupakan bukti yang menyokong hipotesis ini.³

Limfosit T memegang peran penting pada patogenesis DBD. Akibat aktivasi limfosit T akan dikeluarkan mediator yang berperan dalam permeabilitas kapiler dan kaskade pembekuan darah . Ditemukannya limfositosis relatif dan transformasi limfosit (limfosit reaktif) pada darah tepi penderita DBD menyokong adanya proses aktivasi limfosit.³ Downey dan McKinlay menyatakan bahwa limfosit reaktif atau atipik merupakan petanda penyakit apabila dijumpai di darah tepi.⁴

Suvatte dan Longsaman melalui pemeriksaan buffy coat darah tepi penderita DBD menemukan adanya sekitar 20-50% limfosit yang bertansformasi selama awal penyakit terutama pada DBD infeksi sekunder. Hal ini tidak dijumpai pada infeksi virus yang lain, sehingga penemuan ini juga dapat dipakai sebagai alat untuk membedakan DBD

dengan infeksi virus yang lain. Mereka juga menyimpulkan bahwa diagnosis dini melalui buffy coat berkorelasi baik dengan diagnosis serologis yang dilakukan kemudian, dan mempunyai ketepatan pada 94,2% kasus panas hari ke-3 karena DBD. Disebutkan bahwa pemeriksaan tersebut terbukti secara klinis berguna untuk skrining awal DBD infeksi sekunder di negara-negara Asia Tenggara.^{5,6}

Banyaknya limfosit yang teraktivasi diduga berhubungan langsung dengan berat ringannya penyakit DBD.⁴ Liu dan kawan-kawan (1991) menyimpulkan bahwa jumlah limfosit atipik yang berasal dari limfosit T dapat dipakai untuk memperkirakan progresifitas infeksi DBD.⁷ Penelitian Soemarmo juga membuktikan bahwa persentase tinggi limfosit plasma biru pada hari ke-3 sampai hari ke-5 sakit pada darah hapus penderita DBD mempunyai arti penting sehingga dapat dipakai sebagai penunjang diagnosis klinis DBD serta mewaspadaikan secara dini kemungkinan terjadinya SSD.⁸

B. MASALAH PENELITIAN

1. Bagaimanakah gambaran aktivasi limfosit di darah tepi pada penderita DBD / SSD ?
2. Bagaimana hubungan antara gambaran peningkatan aktivasi limfosit di darah tepi dengan kelainan hemostasis yang terjadi pada DBD/ SSD ?

D. HIPOTESIS

1. Gambaran aktivasi limfosit di darah tepi berbeda antara penderita DBD dan SSD.
2. Terdapat hubungan antara peningkatan aktivasi limfosit dengan kelainan hemostasis pada DBD/SSD.

E. TUJUAN PENELITIAN

- **Umum** : Mempelajari imunopatogenesis DBD / SSD dalam usaha menurunkan morbiditas dan mortalitas penderita DBD di Indonesia.

- **Khusus :** Mempelajari proses aktivasi limfosit melalui gambaran aktivasi limfosit di darah tepi dihubungkan dengan perjalanan penyakit pada infeksi DBD.

F. MANFAAT PENELITIAN

- Pelayanan Kesehatan: sebagai penunjang gambaran klinis dan mengetahui lebih dini perjalanan penyakit DBD, sehingga diharapkan dapat menurunkan mortalitas DBD / SSD.
- Pendidikan : menambah wawasan tentang imunopatogenesis, diagnosis dan deteksi dini serta perjalanan penyakit DBD / SSD.
- Penelitian : sebagai titik tolak penelitian lebih lanjut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

♦ Batasan

DBD adalah penyakit infeksi akut yang disebabkan oleh virus Dengue (Den 1-4), ditandai 4 manifestasi klinis meliputi panas tinggi, manifestasi perdarahan, disertai hepatomegali, dan pada kasus berat sampai terjadi kegagalan sirkulasi/syok (SSD) yang dapat menyebabkan kematian.^{1,3,9}

♦ Angka Kejadian

Dalam kurun waktu 30 tahun, angka kejadian DBD terus meningkat. Tahun 1968 *incidence rate* (IR) 0,05 per 100.000 penduduk, tahun 1978 4,9 dan tahun 1983 8,56. Tahun 1988 27,98 sempat turun menjadi 18,41 di tahun 1995, tetapi meningkat lagi menjadi 23,22 per 100.000 penduduk pada tahun 1996.^{8,10} Walau demikian angka kematian DBD di Indonesia cenderung menurun dari 41,3 % (1968) menjadi 2,9% pada tahun 1992 dan makin turun menjadi 2,5 pada akhir 1996 . Angka tersebut berbeda dengan angka kematian DBD di rumah sakit yang masih cukup tinggi yaitu 5-15% terutama di rumah sakit rujukan.³ IR SSD di rumah sakit seperti gunung es yang terlihat puncaknya di permukaan laut, dengan kasus DBD ringan merupakan dasar gunung es yang tidak tampak. Peningkatan kasus di RS dapat digunakan sebagai parameter jumlah kasus dalam populasi. Menurut perkiraan, 1 kasus SSD di RS mencerminkan 150-200 kasus infeksi di masyarakat.⁸

♦ Diagnosis

Diagnosis klinis

Untuk menegakkan diagnosis DBD dipakai kriteria WHO 1997 sebagai berikut :⁹

1. Panas 2-7 hari.
2. Manifestasi perdarahan ditandai setidaknya satu dari tes turniket positif, petekie, ekimosis, purpura, perdarahan mukosa, saluran cerna, bekas suntikan atau dari tempat lain.
3. Hepatomegali
4. Renjatan, nadi cepat dan lemah, tekanan nadi menurun (< 20 mmHg) atau nadi tak teraba, kulit dingin dan anak gelisah.

Laboratorium:

- Trombositopeni (≤ 100.000 sel/mm³).
- Hemokonsentrasi (hematokrit meningkat 20%), atau penemuan obyektif dari peningkatan permeabilitas kapiler).

Adapun tingkat keparahan penyakit DBD juga ditentukan berdasar kriteria WHO sebagai berikut: ^{9,11}

- Derajat I : panas disertai gejala umum non spesifik dengan tes turniket positif sebagai satu-satunya manifestasi perdarahan .
- Derajat II : derajat I dengan manifestasi perdarahan spontan.
- Derajat III : kegagalan sirkulasi , ditandai oleh nadi yang lemah dan cepat dengan tekanan nadi mengecil (< 20 mmHg) atau hipotensi, kulit yang basah dan dingin, serta gelisah.
- Derajat IV : syok yang dalam dengan nadi dan tekanan darah tidak terukur.

Selanjutnya DBD derajat III dan IV disebut sebagai SSD.

Diagnosis pasti DBD ditegakkan melalui pemeriksaan serologi dan isolasi virus.

Diagnosis serologis

1. Uji Hambat Hemaglutinasi.
2. Uji Netralisasi.

3. Uji Fiksasi komplemen
4. Uji ELISA anti Dengue Ig M

Isolasi virus

Merupakan pemeriksaan baku emas untuk diagnosis DBD. Spesimen diambil pada fase viremia yaitu satu minggu sebelum demam sampai awal masa demam sehingga isolasi virus kadang-kadang sulit didapatkan.⁹

♦ Patofisiologi

Terdapat 2 patofisiologi utama yang menentukan derajat penyakit DBD / SSD. Yang pertama adalah peningkatan permeabilitas kapiler penyebab kebocoran plasma intravaskuler sehingga mengakibatkan hemokonsentrasi. Hipovolemia yang terjadi menyebabkan sirkulasi yang tidak stabil mulai dari penurunan sirkulasi perifer sampai syok yang berat. Hal ini membedakan demam dengue dan DBD. Yang kedua adalah gangguan hemostasis yang meliputi koagulopati dan trombositopeni^{11,12,13,14}.

Kebocoran plasma yang terjadi sejak permulaan masa demam dan mencapai puncak pada masa syok bila tidak segera diatasi mengakibatkan anoksia jaringan, asidosis metabolik dan kematian. Syok yang terjadi akut dengan perbaikan klinis yang cepat tanpa kerusakan pembuluh darah permanen menguatkan dugaan bahwa mediator-mediatorlah yang bertanggung jawab atas proses tersebut^{3,11,13}.

Trombositopeni terjadi karena peningkatan penghancuran trombosit. Ini dibuktikan dengan peningkatan megakariosit muda dalam sumsum tulang dan masa hidup trombosit yang memendek. Sedang trombositopeni kemungkinan disebabkan mekanisme imunologis dengan ditemukannya kompleks imun dalam peredaran darah².

Koagulopati juga berperan penting pada terjadinya perdarahan penderita DBD. Adanya aktivasi sistim koagulasi menyebabkan penurunan beberapa faktor pembekuan yaitu faktor II, V, VIII IX, dan X^{2,13}.

♦ Patogenesis

Berbagai teori telah dikemukakan untuk menerangkan patogenesis DBD, antara lain teori virulensi virus, infeksi sekunder, antigen antibodi, teori ADE (*antibody dependent enhancement*), mediator, apoptosis dan sebagainya, tetapi belum ada yang dapat menjelaskan patogenesis tersebut secara pasti. Sampai saat ini respon imun dianggap paling berperan penting pada patogenesis DBD. Hal ini didukung oleh penelitian secara epidemiologis dan laboratoris bahwa pada sebagian besar kasus DBD/SSD terdapat antibodi *pre-infeksi* terhadap virus dengue. Selain itu DBD /SSD lebih sering terdapat di daerah dimana terdapat 2/> serotipe virus dengue secara simultan. Antibodi juga dianggap berperan penting sebagai faktor resiko memberatnya penyakit pada infeksi sekunder.^{3,11}

Respon imun pada infeksi DBD

Respon imun berperan sangat penting, merupakan respon pertahanan yang terjadi akibat infeksi virus dengue. Antibodi yang terbentuk pada demam dengue dengan konsentrasi sub netralizing dalam sirkulasi merupakan predisposisi untuk terjadinya infeksi sekunder yang berat. Dasar respon imun pada DBD adalah adanya 4 serotipe virus dengue. Bila terinfeksi dengan satu serotipe virus dengue maka seseorang akan mempunyai kekebalan terhadap infeksi dengue dengan serotipe yang homolog, tetapi sebaliknya menjadi terpapar terhadap infeksi serotipe lainnya. Mekanisme inilah yang selanjutnya disebut sebagai " *immune enhancement* ".¹⁴

Mekanisme ini dan respon sel T preinflamasi, menjadi dasar pengertian mengapa DHF derajat berat / SSD terjadi pada satu pasien sedang pasien lain tidak.

Respon imunologi yang terjadi meliputi pembentukan kompleks imun, aktivasi limfosit T, aktivasi sistim komplemen, dan produksi sitokin. Respon imun ini terjadi pada 2 fase yaitu fase awal sebelum virus memasuki sel target, dan fase lanjut setelah virus memasuki sel target pejamu.^{3,11}

Respon imun non spesifik berupa pembentukan interferon (IFN) oleh sel yang terinfeksi, berfungsi menghambat replikasi virus. Selanjutnya sel *natural killer* (NK) akan melisis sel yang terinfeksi tersebut sebelum respon imun spesifik (humoral dan seluler) terbentuk .^{3,11}

Respon imun spesifik berupa pembentukan antibodi dan limfosit T sitolitik (CTLs). Antibodi akan memblok ikatan virus dengan sel target dan menghalangi virus masuk ke dalamnya, sedangkan CTLs akan menghancurkan sel yang sudah terinfeksi dan mencegah replikasi virus selanjutnya.^{11,15}

Infeksi primer dan sekunder dibedakan melalui respon imun yang tampak dari kadar Ig M dan IgG. Pada infeksi primer antibodi yang berespon terutama adalah Ig M yang akan bereaksi terhadap serotipe homolog. Pada infeksi sekunder antibodi terutama IgG. Pada saat demam reda yaitu setelah fase viremia (hari ke 3-5) berakhir, pada infeksi primer antibodi mulai terbentuk. Sedang pada infeksi sekunder kadar antibodi yang telah ada meningkat dengan cepat.

Ig M berada dalam darah sekitar hari ke-5, meningkat pada minggu pertama sampai ketiga dan menghilang setelah 2-3 bulan. Ig G pada infeksi primer meningkat sejak hari ke-5 dan mencapai kadar tertinggi pada hari ke-14. Sedang pada infeksi sekunder Ig G telah meningkat pada hari ke-2^{3,11}.

Pada infeksi DBD, antibodi mempunyai dua fungsi yang berlawanan. Pertama (seperti diterangkan sebelumnya), sebagai *neutralizing antibody*, mencegah infeksi

dengan cara mengikat partikel virus dan menghambat pengikatan virus pada reseptor permukaan sel. Antibodi juga melawan protein virus yang diekspresikan pada permukaan sel yang terinfeksi, sehingga memungkinkan pengikatan oleh sel NK (natural killer) atau makrofag dan memacu terjadinya fagositosis atau ADCC (antibody dependent cell-mediated cytotoxicity). Sejalan dengan mobilitas monosit, infeksi akan menyebar ke seluruh tubuh dan monosit/makrofag ini akan menjadi target eliminasi sistim imun yang diperantarai oleh CTLs.^{11,15}

Fungsi kedua (fenomena ADE), yaitu dengan adanya *non /sub neutralizing antibody* yang akan meningkatkan sel yang terinfeksi. Monosit yang terinfeksi virus dengue akan merangsang limfosit dan mengaktivasi limfosit sehingga memproduksi sitokin yang akan mempengaruhi reseptor Fc monosit menyebabkan jumlah sel yang terinfeksi bertambah. Sitokin pada satu sisi berperan sebagai mediator yang memperantarai respon imun tetapi pada sisi lain mengacaukan sistim koagulasi dan fibrinolisis. Pada infeksi dengue, sitokin tertentu seperti TNF dan IL-1 terdapat dengan kadar tinggi dalam sirkulasi selama fase awal infeksi dan mencapai puncaknya pada infeksi yang berat. Pelepasan IFN α , IL-1, IL-2, TNF dan faktor jaringan selanjutnya akan mempengaruhi sel-sel endotel menyebabkan permeabilitas vaskuler meningkat dan mengaktivasi kaskade koagulasi, sehingga terjadi kebocoran plasma sampai syok dan terjadinya perdarahan^{3,11,15}.

Respon seluler pada infeksi DBD

Pada DBD terutama infeksi sekunder, virus yang masuk ke makrofag/monosit akan mendapat tanggapan dari limfosit. Peptida virus akan dibawa oleh molekul MHC kelas I ke permukaan sel monosit tersebut sehingga akan mudah dikenali oleh limfosit T CD 8. Terjadi aktivasi sel T yang bermakna dengan dikeluarkannya CD4 dan CD8. Aktivasi ini menyebabkan dilepaskannya sitokin-sitokin dan mediator-mediator kimia

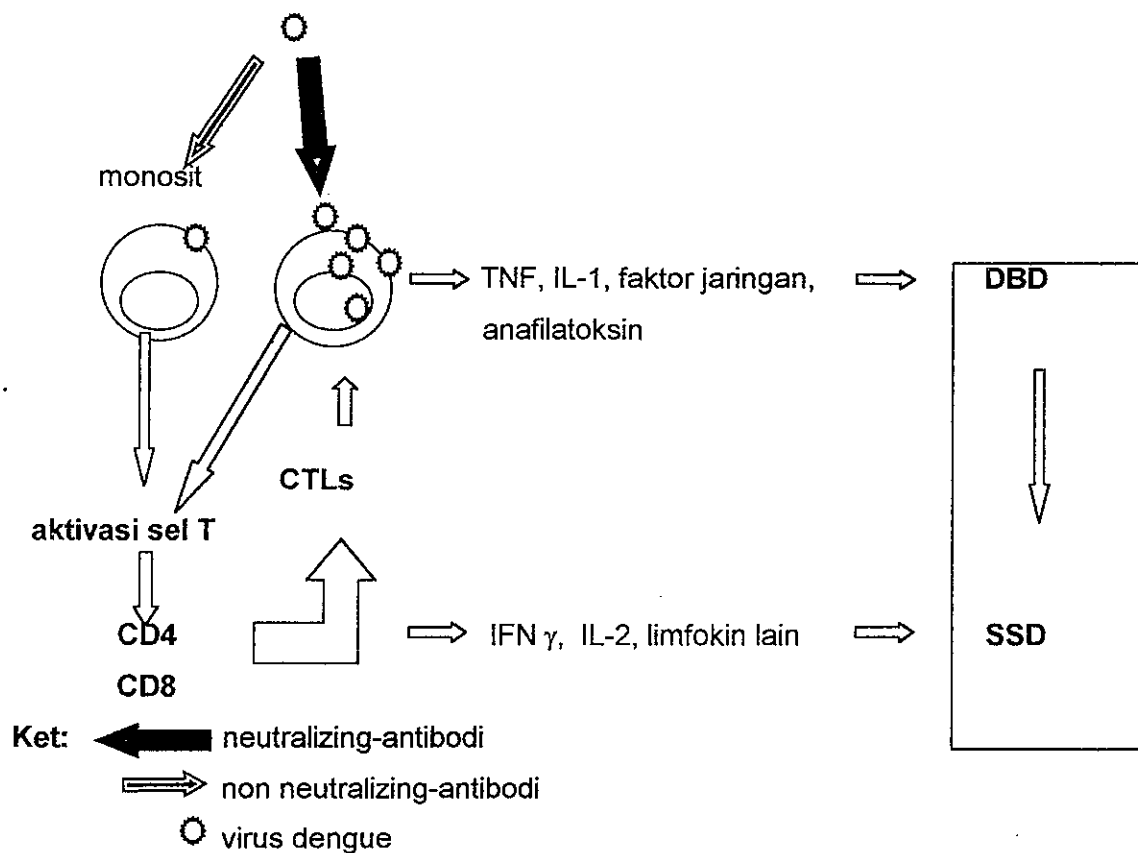
yang berperan pada permeabilitas kapiler dan kaskade pembekuan darah serta terjadi lisis dari monosit yang terinfeksi dengue melalui perantaraan sel T sitotoksik. Aktivasi respon imun seluler ini tampak sejak awal infeksi dan bertambah sesuai dengan derajat keparahan penyakit^{3,11,15}.

Aktivasi limfosit

Limfosit diproduksi oleh organ limfoid utama yaitu sumsum tulang dan tymus. Limfosit kemudian bermigrasi ke jaringan limfoid sekunder seperti lien, pembuluh darah dan limfe. Beberapa limfosit matur hidup selama beberapa tahun sebagai sel memori. Limfosit mempunyai ukuran bermacam-macam dengan diameter 6-10 μm . Perbedaan terletak pada bentuk sitoplasma dan rasio inti dengan sitoplasma (N/C). Dalam keadaan normal terdapat 2 bentuk limfosit yaitu limfosit kecil yang tidak bergranula (N/C besar) dan limfosit besar yang bergranula azurofilik (N/C kecil).

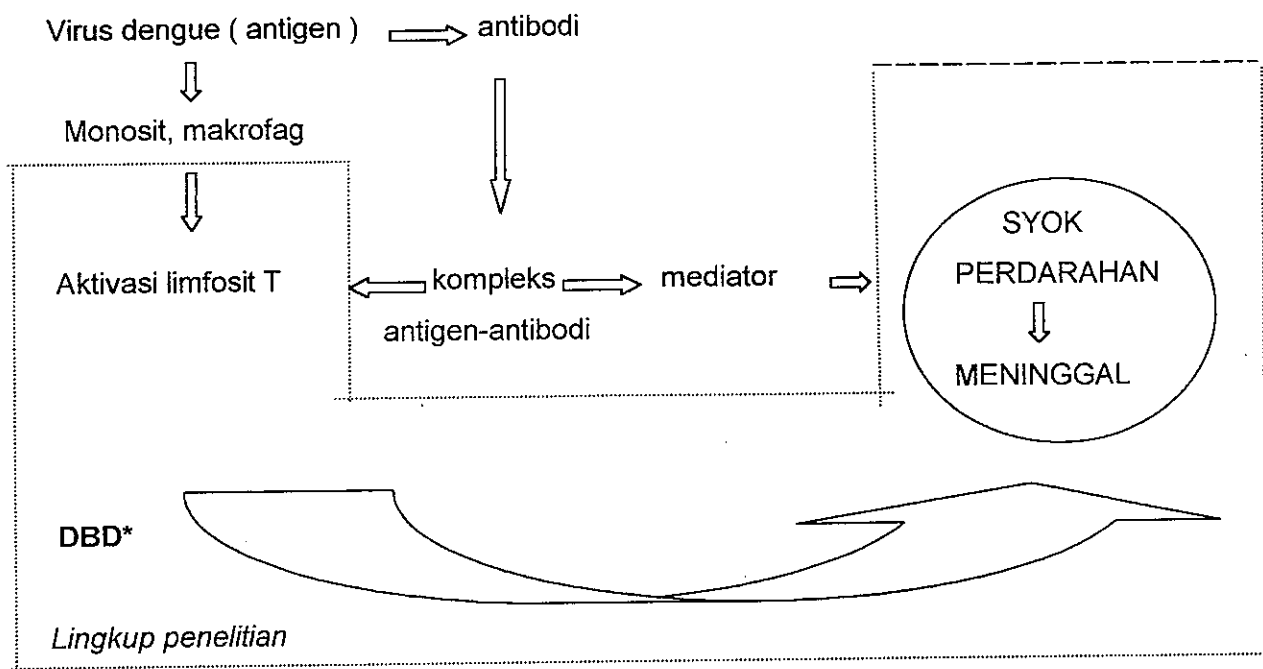
Suvatte dan Longsaman melalui pemeriksaan buffy coat darah tepi penderita DBD menemukan adanya sekitar 20-50% limfosit yang bertansformasi selama awal penyakit terutama pada DBD infeksi sekunder, yang tidak dijumpai pada infeksi virus yang lain. Pada penderita demam dengue aktivasi sel T yang terjadi lebih sedikit, sehingga penemuan ini dapat dipakai sebagai alat untuk membedakan DBD dengan infeksi virus yang lain^{8,11}. Green dkk yang meneliti RNA virus memakai flow cytometri menemukan peningkatan sel T dan sel NK pada hari ke 3 penderita DBD dibanding penderita demam dengue. Proses yang sebetulnya bertujuan untuk membersihkan sel-sel yang terinfeksi dan menyembuhkan proses infeksi ini sebaliknya justru berperan penting dalam terjadinya SSD^{3,11,16,17}

KERANGKA TEORI



Gambar 1: Immunopatologi DBD/SSD yang ditimbulkan oleh antibodi terhadap virus dengue dan limfosit T.^{11,14}

KERANGKA KONSEP



▲ : variabel pengganggu: - umur
- Status gizi
- terapi cairan
- tranfusi darah

Hari 0: pantauan klinis, preparat hapus, lab, Ro, serologi
 Hari 2: pantauan klinis, preparat hapus, lab, Ro
 Hari 7: pantauan klinis, preparat hapus, lab, Ro

* kriteria WHO

BAB III

METODE PENELITIAN

1. Desain Penelitian

Merupakan penelitian analitik observasional menggunakan desain *cross sectional* dengan pengamatan yang dilakukan pada periode 0-7 hari perawatan .

2. Tempat & waktu penelitian

Penelitian dikerjakan pada pasien DBD yang dirawat di Instalasi Rawat Inap (IRNA) C, yaitu di bangsal bagian infeksi, HND dan PICU Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang , mulai bulan Juli 2001 sampai sampel tercapai.

3. Populasi dan sampel penelitian

Populasi target penelitian adalah semua pasien anak yang menderita DBD. Populasi terjangkau adalah semua pasien DBD berumur 3 sampai 14 tahun yang dirawat di RSDK selama kurun waktu penelitian. Pasien masuk RSDK yang memenuhi kriteria penelitian diambil sebagai sampel (*consecutive sampling*). Besar sampel dihitung berdasar rumus besar sampel untuk mencari resiko relatif sebagai berikut ¹⁵ :

$$N = \frac{(z_{\alpha} \sqrt{2PQ} + z_{\beta} \sqrt{P_1Q_1 + P_2Q_2})^2}{(P_1 - P_2)}$$

dimana $z_{\alpha} = 1,96$; $OR = 2$; $z_{\beta} = 0,842$; dan P_2 (dari kepustakaan)^{8,11} $= 0,4$ maka didapatkan besar sampel minimal sebesar 41 orang. Pada penelitian ini dipakai jumlah sampel sebanyak 50 anak.

4. Kriteria inklusi dan eksklusi

a. Kriteria inklusi :

- Pasien yang didiagnosis DBD derajat I-IV dirawat di RSDK.
- Berumur 3-14 tahun.
- Orang tua bersedia ikut dalam penelitian

b. kriteria eksklusi :

- KEP berat, riwayat atopi, menderita penyakit kronis, sepsis.
- Tidak bersedia ikut dalam penelitian.
- Diperkirakan alamat rumah tidak dapat dijangkau pada kunjungan rumah.
- Preparat hapus rusak / tidak dapat dinilai.

5. Pengumpulan data

Penelitian mengambil data dari suatu studi kohort tentang Demam Berdarah Dengue kerjasama Indonesia dan Belanda. Kasus merupakan penderita DBD dan SSD berdasar kriteria WHO, yang dirawat di bangsal anak baik di bangsal infeksi, HND maupun PICU yang memenuhi kriteria inklusi. Semua penderita diikuti perjalanan penyakitnya melalui kuesener dan lembar pemantauan. Darah diambil untuk pemeriksaan darah rutin, kimia darah dan preparat hapus pada hari perawatan ke 0, 2, dan 7. Diagnosis pasti DBD dikonfirmasi dengan pemeriksaan serologi. Pengambilan darah untuk serologi *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) untuk mendeteksi IgG dan IgM antibodi dilakukan pada hari ke 0. Pemeriksaan radiologi untuk mengetahui ada tidaknya efusi pleura dilakukan pada hari 0, 2 dan 7.

Bahan diambil dari darah EDTA, dibuat preparat darah hapus dan difiksasi dengan metanol selama 1 menit. Setelah kering diwarnai dengan larutan Giemsa 10% selama 10 menit, dibilas dengan air kran dan dikeringkan, kemudian diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali. Dinilai gambaran secara keseluruhan meliputi jumlah dan morfologi eritrosit, leukosit, trombosit. Pemeriksaan dilakukan dalam

5 lapangan pandang dan dihitung perseratus sel leukosit. Tiap 1 penderita dibaca 3 preparat hapus yang diambil pada hari ke- 0, 2 dan 7. Dinilai perubahan jumlah dan morfologi limfosit dari preparat darah hapus sebagai bentuk aktivasi limfosit di darah tepi. Gambaran aktivasi limfosit dihubungkan dengan manifestasi klinis dan perjalanan penyakit DBD pada masing-masing hari yang sama. Pembacaan dilakukan oleh seorang ahli hematologi dan seorang ahli patologi klinik serta dilakukan perhitungan nilai Kappa.

6. Analisa data

Data yang sudah terkumpul diedit, dikoding dan dimasukkan dalam bentuk file komputer. Setelah itu dilakukan *cleaning* untuk menjamin tidak ada kesalahan pemasukan data. Selanjutnya dilakukan penghitungan statistik untuk menghitung besar resiko (RR) aktivasi limfosit terhadap status keparahan penyakit (DBD /SSD). Uji hipotesis hubungan aktivasi limfosit dengan parameter kelainan hemostasis diuji dengan tes dilakukan memakai X^2 – tes / tes Fischer exact. Pengaruh variabel pengganggu ditiadakan dengan analisa multipel regresi. Penghitungan statistik selanjutnya menggunakan program SPSS 10.0 for Window dan Epi Info.

7. Definisi Operasional

a. DBD : sesuai dengan kriteria WHO 1997, yaitu demam 2-7 hari dengan manifestasi perdarahan, disertai hemokonsentrasi dan trombositopeni.

b.SSD : DBD derajat III dan IV. Konfirmasi laboratorium dilakukan dengan uji ELISA.

c. Kelainan Hemostasis: perubahan / abnormalitas sistim vaskuler, trombosit dan koagulasi. Parameter yang diuji pada penelitian ini yaitu nilai hematokrit, indeks efusi pleura, kadar trombosit, dan kadar fibrinogen.

d. Aktivasi limfosit : dinyatakan sebagai peningkatan jumlah dan perubahan morfologi limfosit pada penderita DBD / SSD. Merupakan bentuk limfosit reaktif berasal dari jaringan limfoid yang diproduksi akibat berbagai rangsangan seperti infeksi, imunisasi, hormonal reaksi obat, dan penyakit lain seperti keganasan dan autoimun. Limfosit normal kecil, berukuran sedikit lebih besar dibanding eritrosit dan miskin sitoplasma basofilik. Inti masih berbentuk teratur bulat atau oval, dengan kromatin padat dan nukleoli jelas. Ukuran limfosit akan mulai membesar, kaya akan sitoplasma berwarna biru terang. Selanjutnya terjadi perubahan bentuk inti menyerupai monosit, plasmosit atau blastosit.

- Limfosit blastoid : lebih besar dari limfosit kecil, inti padat bulat, sitoplasma sedikit lebih kaya dan sangat biru gelap.
- Limfosit plasmasitoid : lebih besar dari limfosit kecil, lebih kaya sitoplasma, warna lebih lebih basofilik dengan halo, inti pada bulat eksentrik.
- Limfosit monositoid : sel besar menyerupai monosit dengan inti padat dan berbentuk relatif tidak teratur, kaya sitoplasma yang berwarna terang dan sedikit basofilik.

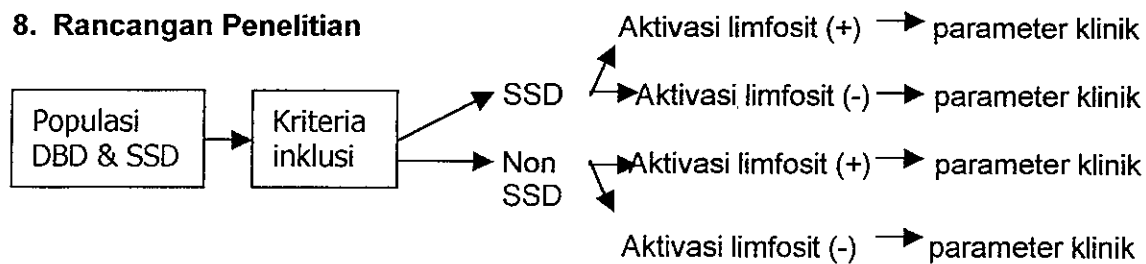
e. Hari perawatan 0: Hari saat penderita datang pertama kali di RSDK.

f. Hemokonsentrasi: nilai hematokrit meningkat 20% atau lebih dari nilai normal menurut umur.

g. Trombositopeni: kadar trombosit yang dipakai untuk menegaskan diagnosis DBD sesuai WHO adalah $<100.000/\text{mm}^3$.

h. Pleural Effusion Index (PEI): indeks efusi pleura yang didapat dari gambaran foto dada posisi *right lateral decubitus* (RLD), dengan menghitung rasio antara daerah efusi pleura dan hemitoraks (lebar daerah efusi / lebar daerah hemithoraks x 100).

8. Rancangan Penelitian



variabel pengaruh

Aktivasi limfosit

variabel pengganggu

status gizi, umur
terapi sebelumnya
transfusi

variabel terpengaruh

SSD / non SSD

9. Orisinalitas

Penelitian yang mempelajari gambaran aktivasi limfosit pada preparat hapus banyak didapatkan. Suvatte (1979), Soemarmo (1988) dan Soetaryo (1991) membandingkan limfosit plasma biru (LPB) pada berbagai infeksi virus dan menyimpulkan bahwa LPB merupakan bukti sensitisasi terhadap virus dengue serta mempunyai sensitivitas dan spesifisitas tinggi sehingga dapat dipakai sebagai penunjang diagnosis dini DBD. Penelitian Budiwiyo (tidak dipublikasikan) menghubungkan macam-macam bentuk aktivasi limfosit dengan kadar imunoglobulin dan derajat DBD. Penelitian kami mempelajari dan membandingkan perubahan gambaran aktivasi limfosit menurut hari sakit dihubungkan dengan parameter klinis menurut patogenesis DBD.

10. Jadwal Pelaksanaan

Lama penelitian berlangsung selama 9 bulan dengan jadwal sebagai berikut :

- a. Persiapan : 1 bulan
- b. Pengumpulan data dan pemantauan sampel : 6 bulan
- c. Analisis data : 1 bulan
- d. Penyusunan laporan : 1 bulan

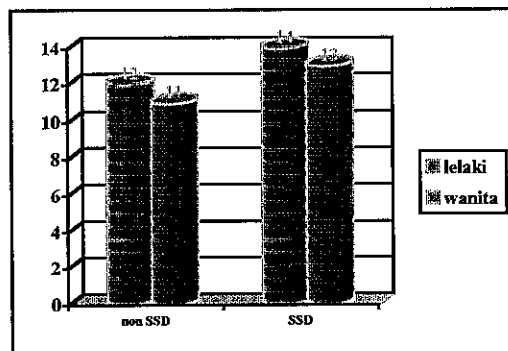
BAB IV

HASIL PENELITIAN

A. Karakteristik umum sampel

A.1. Jenis kelamin

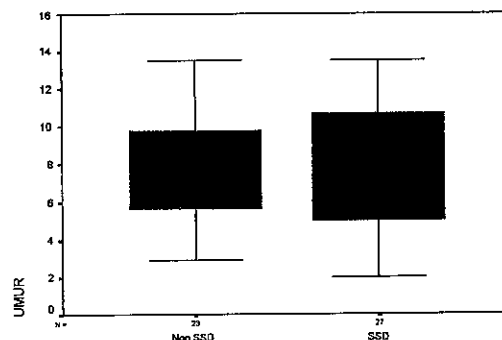
Sebanyak 50 penderita yang masuk dalam populasi penelitian terdiri dari 23 penderita DBD derajat I dan II (selanjutnya disebut sebagai penderita non SSD), serta 27 penderita SSD. Menurut jenis kelamin terdapat 26 penderita laki-laki dan 24 penderita perempuan.



Gambar 1. Sebaran penderita DBD / SSD menurut jenis kelamin

A.2. Umur

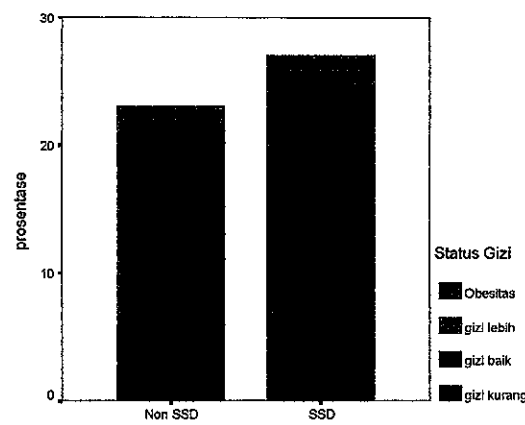
Menurut umurnya, terdapat 46% penderita berumur 3-6 tahun, 30% berumur 7-10 tahun dan 24% berumur 11-14 tahun. Umur rata-rata penderita SSD dalam populasi ini yaitu $7,7 \pm 3,4$ tahun, sedang non SSD adalah $8,0 \pm 3,0$ tahun.



Gambar 2. Sebaran menurut golongan umur pada non SSD dan SSD

A.3. Status Gizi

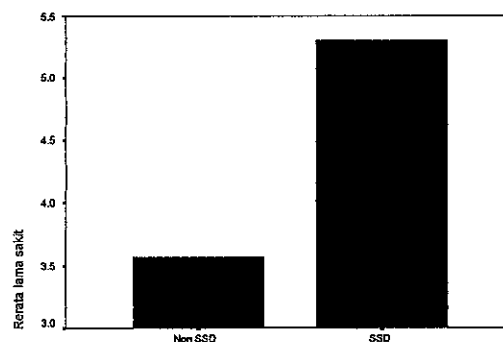
Berdasar status gizi, 50% populasi (25 penderita) dengan gizi kurang, 40% (20 penderita) gizi baik dan 10% (5 penderita) terdiri dari gizi lebih dan obesitas. Dari 23 penderita non SSD, ternyata 65% berstatus gizi baik dan 26% gizi kurang dengan rata-rata indeks massa tubuh (IMT) adalah $16,6 \pm 9,0$. Sedangkan dari 27 penderita SSD 70% mempunyai status gizi kurang, dan 18,5% berstatus gizi baik dengan rata-rata IMT $14,6 \pm 5$. Sebaran penderita menurut status gizi dapat dilihat pada tabel berikut:



Gambar 3. Sebaran penderita DBD / SSD menurut status gizi

A.4. Rerata lama sakit

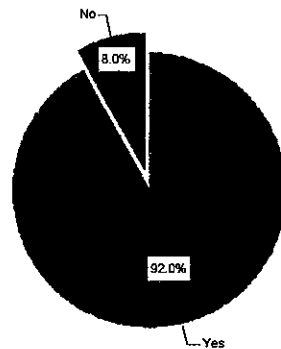
Rerata lama sakit yang sudah diderita pada saat masuk rumah sakit (hari 0 perawatan) penderita SSD 5,3 hari sedang non SSD 3,5 hari, digambarkan melalui tabel berikut:



Gambar 4. Rerata lama sakit pada hari perawatan 0

A.5. Pengobatan sebelumnya

Dari semua sampel, sebagian besar (92%) sudah pernah mendapatkan pengobatan sebelum dirawat di rumah sakit, berupa antibiotik (74%), antipiretik (16%), dan steroid (12%).



Gambar 5. Jumlah sampel yang sudah mendapatkan terapi sebelumnya.

A.6. Gejala klinis

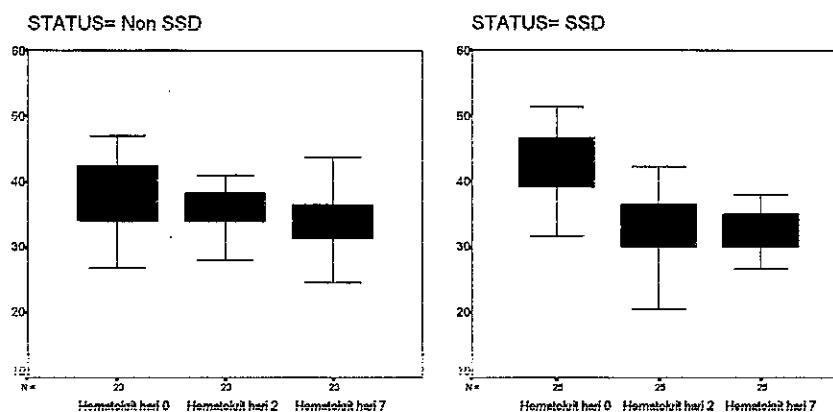
Pada semua penderita didapatkan gejala umum yang tidak spesifik yaitu malaise, nyeri perut dan manifestasi perdarahan. Selain memenuhi kriteria WHO, temuan spesifik dari gejala klinik pada populasi penelitian ini adalah adanya efusi pleura yang mempunyai hubungan bermakna dengan derajat berat penyakit ($p < 0,05$). Terdapat 4% penderita meninggal, 16% penderita yang mengalami komplikasi seperti syok berulang (8%), syok yang sulit teratasi/profound shock (8%), pembekuan intravaskuler menyeluruh (4%), edema paru (2%) dan ensefalopati dengue (2%).

A.7. Parameter laboratorik

Kelainan hemostasis pada penderita DBD disebabkan oleh vaskulopati, trombositopati dan koagulopati. Karakteristik ketiga kelainan tersebut pada penelitian ini dinyatakan melalui kadar hematokrit, trombosit dan fibrinogen, dan efusi pleura.

A.7. a. Hematokrit

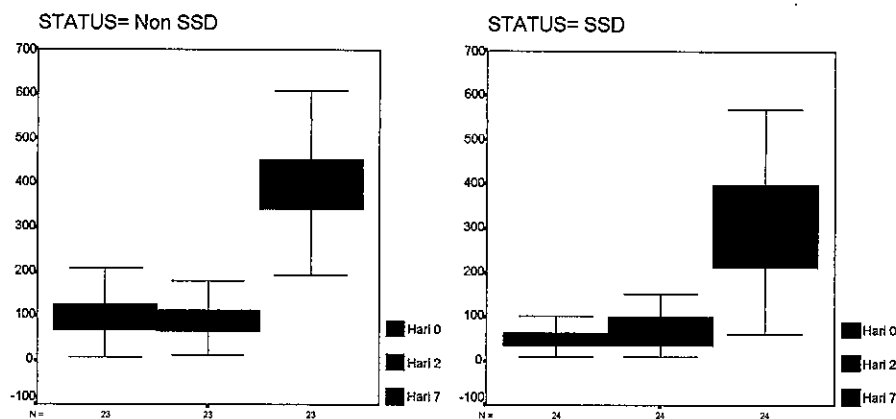
Pada penderita non SSD didapatkan rerata nilai hematokrit hari ke-0 adalah 37,7% dan mengalami penurunan yang tidak terlalu nyata pada hari ke-2 dan ke-7 yaitu 36,0% dan 34,0%. Sedangkan pada penderita SSD, rerata nilai hematokrit hari 0 sangat meningkat yaitu 41,6%. Pada hari ke-2 tampak penurunan yang nyata menjadi 32,6% lebih rendah dari rerata hari 2 penderita non SSD. Pada hari ke-7 rerata hematokrit kembali ke nilai normal dengan hanya sedikit penurunan dibanding hari ke-7 yaitu 31,8%. seperti dijelaskan diagram berikut:



Gambar 6. Kadar hematokrit hari 0,2,7 pada non SSD dan SSD

A.7.b. Trombosit

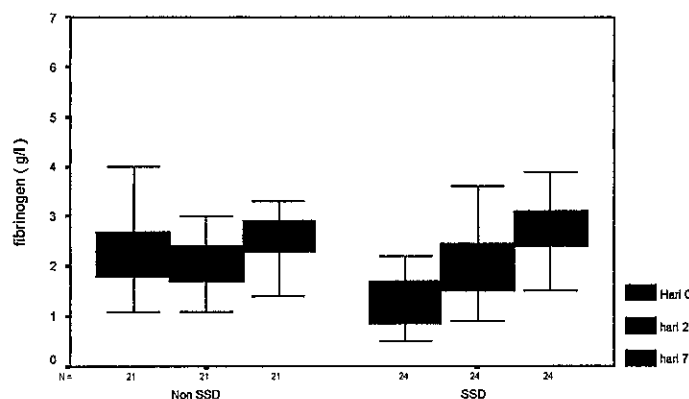
Pada non SSD didapatkan rerata kadar trombosit hari 0 yaitu 93.000/mm³ dengan sedikit peningkatan pada hari ke-2 yaitu 95.800/mm³. Pada penderita SSD rerata kadar trombosit hari 0 lebih rendah yaitu 57.300/mm³; meningkat nyata menjadi 72.000/mm³ pada hari ke-2. Pada hari ke-7 rerata kadar trombosit penderita non SSD dan SSD sudah kembali normal yakni 396.300/mm³ dan 309.800/mm³, seperti digambarkan pada diagram berikut:



Gambar 7. Kadar trombosit hari 0,2,7 pada non SSD dan SSD

A.7. c. Fibrinogen

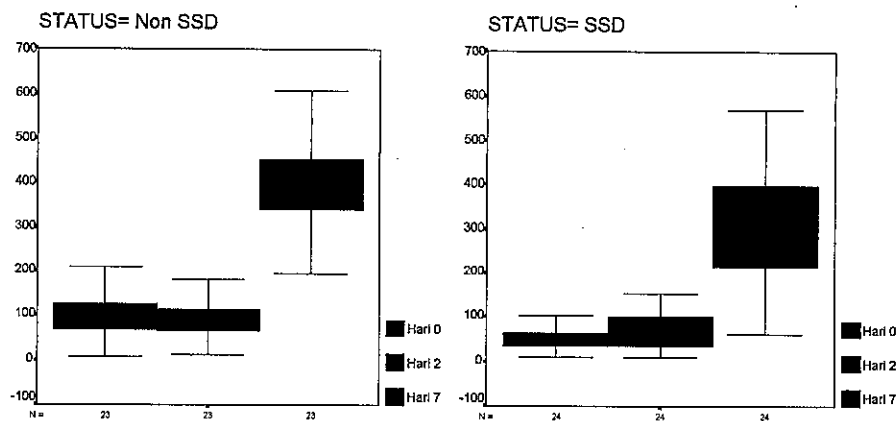
Pada non SSD hari 0 dan 2 didapatkan penurunan rerata kadar fibrinogen tetapi masih dalam rentang nilai normal yaitu 2,2 g/L dan 2,1 g/L. Sedang pada SSD kadar fibrinogen sangat rendah pada hari 0 yaitu 1,3 g/L, meningkat tajam pada hari 2 menjadi 1,9 g/L. Hari ke-7 didapatkan nilai rerata pada SSD dan non SSD sudah mencapai normal yaitu 2,7 g/L dan 2,6 g/L (tabel).



Gambar 8. Kadar fibrinogen hari 0,2,7 pada non SSD dan SSD

A.7. d. Efusi pleura

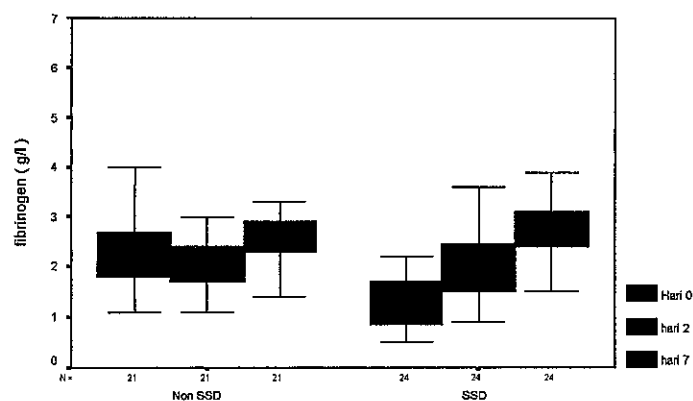
Pada 60,0% sampel dijumpai adanya efusi pleura terutama pada paru kanan yang tampak melalui pemeriksaan foto dada. Pada 27 penderita SSD didapatkan 74,1% mempunyai PEI > 6% dan 26,1% PEI < 6%. Sedangkan pada penderita non



Gambar 7. Kadar trombosit hari 0,2,7 pada non SSD dan SSD

A.7. c. Fibrinogen

Pada non SSD hari 0 dan 2 didapatkan penurunan rerata kadar fibrinogen tetapi masih dalam rentang nilai normal yaitu 2,2 g/L dan 2,1 g/L. Sedang pada SSD kadar fibrinogen sangat rendah pada hari 0 yaitu 1,3 g/L, meningkat tajam pada hari 2 menjadi 1,9 g/L. Hari ke-7 didapatkan nilai rerata pada SSD dan non SSD sudah mencapai normal yaitu 2,7 g/L dan 2,6 g/L (tabel .).

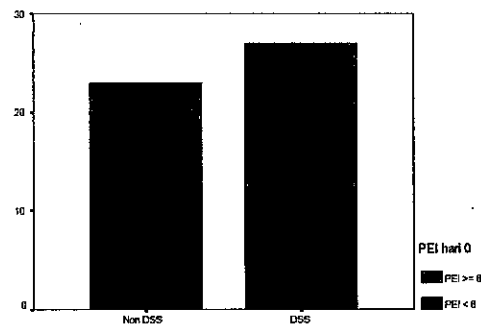


Gambar 8. Kadar fibrinogen hari 0,2,7 pada non SSD dan SSD

A.7. d. Efusi pleura

Pada 60,0% sampel dijumpai adanya efusi pleura terutama pada paru kanan yang tampak melalui pemeriksaan foto dada. Pada 27 penderita SSD didapatkan 74,1% mempunyai PEI > 6% dan 26,1% PEI < 6%. Sedangkan pada penderita non

SSD, 73,9% dijumpai PEI < 6% dan hanya 26,1% dengan PEI >6%. Terdapat hubungan bermakna ($p < 0,05$) antara besarnya indeks efusi pleura (PEI) dengan derajat keparahan penyakit.



Gambar 9. Sebaran penderita yang mengalami efusi pleura

B. Aktivasi Limfosit

Respon imun seluler yang terlihat dari gambaran aktivasi limfosit berupa peningkatan jumlah dan perubahan bentuk limfosit dijumpai pada semua penderita sejak awal perawatan.

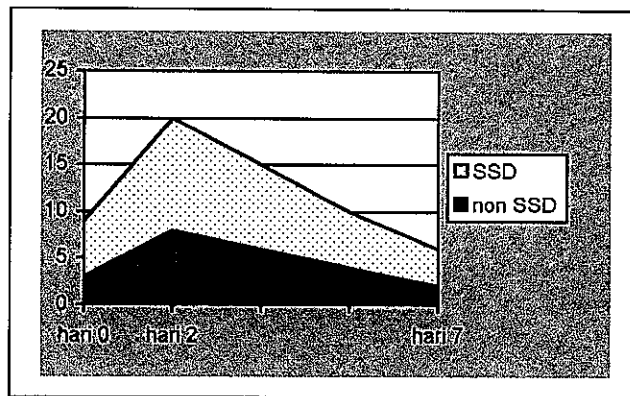
B.1. Jumlah Aktivasi Limfosit

Pada penelitian ini didapatkan rerata jumlah limfosit teraktivasi pada hari 0 adalah 3,3% pada non SSD dan 7% pada SSD. Pada hari ke-2 aktivasi meningkat nyata baik pada kelompok SSD maupun non SSD dan menurun pada hari ke-7.

Tabel 1. Rerata dan simpang baku jumlah limfosit teraktivasi hari 0, 2, 7

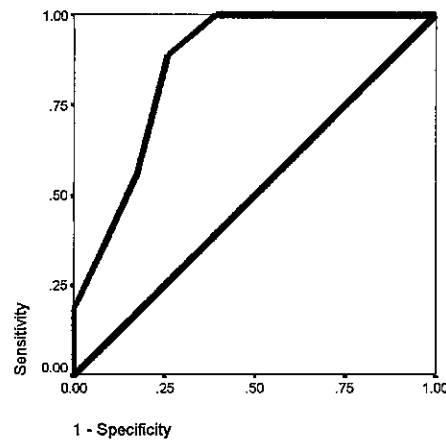
Limfosit	Status	
	Non SSD (n= 23)	SSD(n=27)
Hari 0	3,3 ± 1,9 (3,0)	7,0 ± 3,8 (6,0)
Hari 2	8,0 ± 3,5 (8,0)	14,5 ± 5,0 (12,0)
Hari 7	3,0 ± 1,5 (2,5)	5,6 ± 2,8 (4,0)

Pada penderita SSD peningkatan jumlah limfosit teraktivasi lebih banyak dibanding non SSD ($p < 0,05$), digambarkan lebih jelas pada diagram berikut:



Gambar 10. Diagram rerata jumlah limfosit teraktivasi pada SSD dan non SSD

Dari kurva ROC didapatkan titik potong jumlah aktivasi limfosit penderita SSD dan non SSD pada hari 0 adalah $> 4,5\%$ ($p < 0,05$) dengan rasio prevalensi sebesar 5,3 (interval kepercayaan 95% adalah 1,85 sampai 15,37).



Gambar 11. Kurva ROC jumlah limfosit teraktivasi hari perawatan 0 pada penderita SSD dan non SSD

Peningkatan limfosit teraktivasi sampai $> 4,5\%$ paling sering dijumpai pada hari sakit ke-4.

Hari sakit	Aktivasi limfosit		Total
	$>4,5\%$	$\leq 4,5\%$	
2.00	6	3	9
3.00	7	6	13
4.00	11	6	17
5.00	3	4	7
6.00	2	1	3
7.00	1		1
	30	20	50

Tabel 2. Frekuensi penderita yang mengalami peningkatan aktivasi limfosit menurut lama hari sakit

Pada hari perawatan ke-0, peningkatan jumlah aktivasi limfosit sampai > 4, 5% didapatkan pada 30 penderita terdiri dari 24 penderita SSD dan 6 penderita non SSD. Pada hari 2 dan 7 jumlah ini menurun menjadi 28 dan 21 penderita, dijelaskan pada tabel berikut:

Tabel 3. Aktivasi limfosit pada penderita SSD dan non SSD

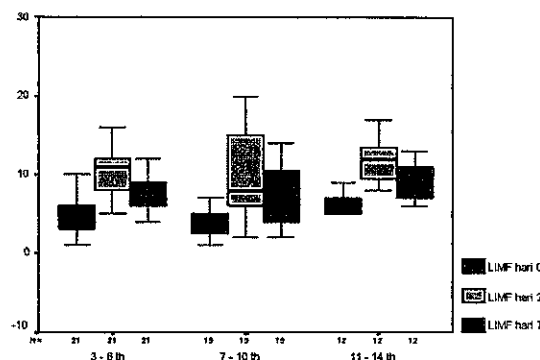
Jumlah Limfosit Teraktivasi	> 4, 5%		≤ 4,5%		p	RR	CI
	SSD	Non SSD	SSD	Non SSD			
Hari 0	24	6	3	17	0,0001	5,33	1,85-15,37
Hari 2	24	4	3	19	0,0005	6,29	2,17-18,19
Hari 7	19	2	8	21	0,0006	3,28	1,79-6,01

Fisher's Exact tes, $p < 0,05$, CI 95%

Aktivasi limfosit sebagai bagian dari respon imun sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya umur dan status gizi.

a. Umur

Peningkatan jumlah aktivasi limfosit umur 3-6 tahun (23 penderita) pada hari 0 adalah $5,7 \pm 4,5$; hari ke-2 yaitu $12,0 \pm 5,7$; dan hari ke-7 yaitu $7,6 \pm 2,9$. Pada kelompok umur 7-10 tahun (15 penderita) hari 0,2,7 didapatkan $4,0 \pm 1,9$; $9,9 \pm 5,6$; dan $7,2 \pm 4,0$. Pada kelompok umur 11-14 tahun (12 penderita) didapatkan jumlah aktivasi limfosit hari 0,2,7 yaitu $6,0 \pm 2,9$; $12,6 \pm 4,6$; dan $9,1 \pm 2,4$.



Gambar 12. Sebaran dan nilai tengah limfosit teraktivasi hari 0, 2, 7 menurut kelompok umur

Peningkatan aktivasi limfosit $> 4,5\%$ yang bermakna ($p < 0,05$) didapatkan pada penderita SSD kelompok umur 3-6 tahun dan 7-10 tahun. Rasio prevalensi sebesar 4,62 (interval kepercayaan 95% 11,32-16,1) didapatkan pada kelompok umur 3-6 tahun.

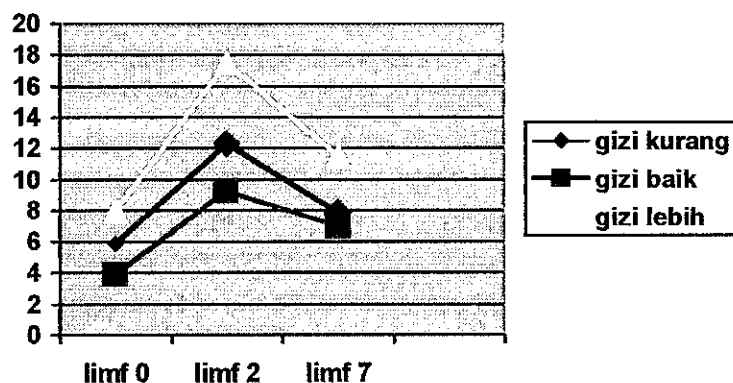
Tabel 4. aktivasi limfosit penderita non SSD dan SSD menurut kelompok umur

Aktivasi limfosit	Umur 3-6 tahun		Umur 7-10 tahun		Umur 11-14 tahun	
	SSD	Non SSD	SSD	Non SSD	SSD	Non SSD
$> 4,5\%$	12	1	5	2	3	3
$< 4,5\%$	2	8	1	7	0	2
p	0,001		0,04		0,15	
RR	4,62		5,71			
CI	(11,32-16,1)		(0,86-37,9)			

Fisher's Exact tes, $p < 0,05$, CI 95%

b. Status Gizi

Rerata dan simpang baku jumlah limfosit yang teraktivasi pada penderita gizi kurang hari 0,2,7 yaitu : $5,8 \pm 4,2$; $12,3 \pm 5,2$; dan $7,9 \pm 3,1$. Pada penderita gizi baik, didapatkan hari 0,2,dan 7 yaitu $3,9 \pm 2,0$; $9,3 \pm 4,2$; dan $7,0 \pm 2,9$. Sedangkan pada penderita gizi lebih didapatkan aktivasi limfosit yang lebih tinggi yaitu $7,0 \pm 3,0$ pada hari 0; $14,7 \pm 6,4$ pada hari 2 dan $11,0 \pm 3,6$ pada hari 7.



Gambar 13. Rerata jumlah limfosit teraktivasi hari 0, 2,7 menurut status gizi.

Tingkat aktivasi limfosit > 4, 5% dijumpai pada semua kelompok status gizi, tetapi peningkatan jumlah limfosit teraktivasi secara bermakna didapatkan pada penderita SSD dengan gizi kurang ($p < 0,05$) dengan rasio prevalensi 2,51.

Tabel 5. Aktivasi limfosit menurut status gizi

Aktivasi limfosit	Gizi kurang		Gizi baik		Gizi lebih	
	SSD	Non SSD	SSD	Non SSD	SSD	Non SSD
> 4, 5%.	16	1	5	4	3	1
≤ 4,5%	3	5	0	11	0	1
<i>p</i>	0,006		0,08		0,34	
RR	2,51					
CI	1,02-6,19					

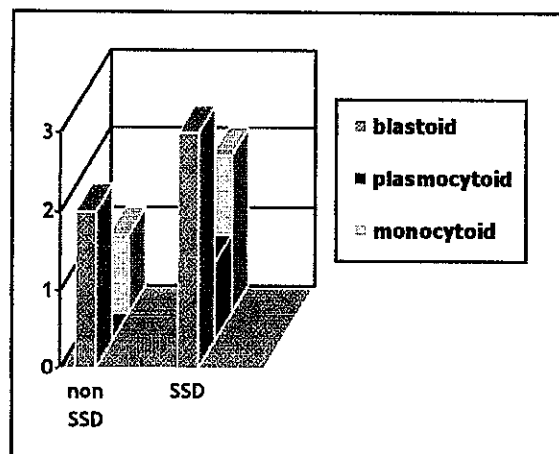
Fisher's Exact tes, $p < 0,05$, CI 95%

B.2. Bentuk aktivasi limfosit

Menurut bentuknya, terdapat 3 macam bentuk limfosit teraktivasi yakni bentuk monositoid, blastoid dan plasmositoid. Bentuk blastoid dan monositoid lebih sering dijumpai baik pada kelompok SSD maupun non SSD dibanding bentuk plasmositoid. Pada populasi kami tidak didapatkan hubungan antara berbagai bentuk limfosit tersebut dengan perjalanan penyakit dan keparahan DBD (tabel 6).

Tabel 6. Rerata, nilai tengah dan simpang baku bentuk limfosit hari 0, 2, 7 pada penderita SSD dan non SSD

Hari	Non SSD			SSD		
	blastosit	monositoid	plasmositoid	blastosit	monositoid	plasmositoid
0	1,7 ± 1,1 (2,0)	1,3 ± 1,0 (1,0)	0,2 ± 0,4 (0,0)	3,2 ± 1,8 (3,0)	2,6 ± 1,5 (2,0)	1,1 ± 1,5 (1,0)
2	3,5 ± 1,8 (3,0)	4,1 ± 1,9 (4,0)	0,4 ± 0,6 (0,0)	6,3 ± 1,9 (6,0)	5,4 ± 2,1 (5,0)	2,9 ± 2,7 (2,0)
7	2,8 ± 1,6 (3,0)	3,0 ± 1,5 (3,0)	0,2 ± 0,4 (0,0)	4,5 ± 1,7 (4,0)	4,0 ± 1,3 (4,0)	1,1 ± 1,1 (1,0)



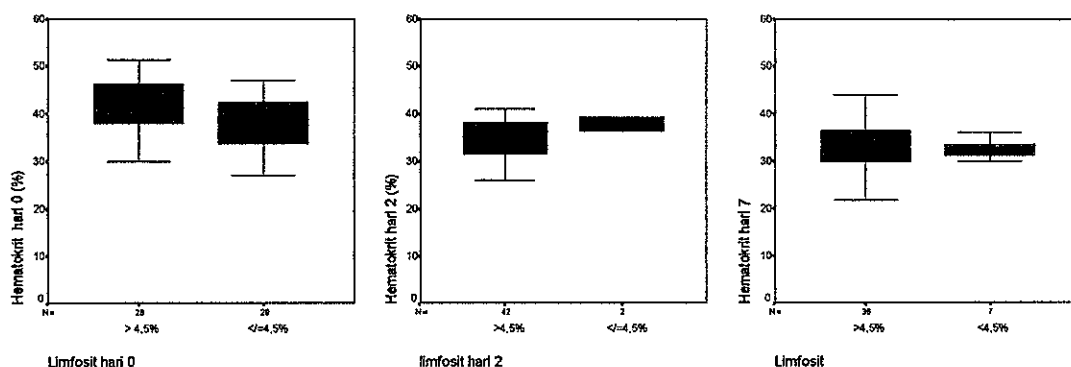
**Gambar 14. Hubungan bentuk aktivasi limfosit pada hari 0,2,7
Penderita non SSD dan SSD**

C. Aktivasi limfosit dalam hubungan dengan patogenesis DBD

Penderita dengan peningkatan jumlah aktivasi limfosit $> 4,5\%$ (selanjutnya disebut sebagai kelompok I) mempunyai karakteristik yang berbeda dibanding penderita dengan peningkatan aktivasi yang $\leq 4,5\%$ (kelompok II).

C.1. Hematokrit

Pada hari 0 rerata kadar hematokrit kelompok I meningkat lebih tinggi dibanding kelompok II. Pada hari 2 dan 7 hampir tidak didapatkan perbedaan kadar hematokrit pada kedua kelompok.



Gambar 15. Sebaran dan nilai tengah kadar hematokrit menurut peningkatan aktivasi limfosit pada hari 0,2 dan 7

Pada hari perawatan 0, dari 26 penderita yang mengalami hemokonsentrasi, 76,9% mengalami peningkatan limfosit teraktivasi sampai > 4, 5%. ($p < 0,05$). Pada hari perawatan ke 2 peningkatan aktivasi limfosit masih didapatkan pada semua penderita yang mengalami hemokonsentrasi meskipun hubungan ini kurang bermakna. Pada hari 7 hemokonsentrasi sudah tidak didapatkan pada kedua kelompok

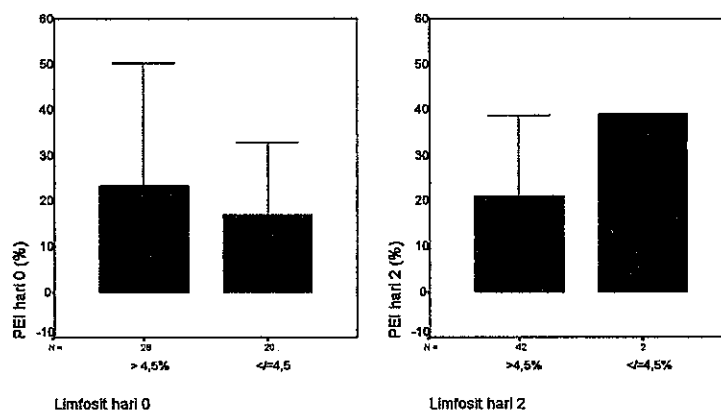
Tabel 7. Hubungan peningkatan aktivasi limfosit dengan hemokonsentrasi

Aktivasi limfosit	Hari 0 (26 penderita)	Hari 2 (4 penderita)
> 4, 5%.	20	4
$\leq 4,5\%$	6	0
p	0,02	0,07
RR	2,2	3,0
CI	1,09 - 4,55	0,97 - 9,3

Fisher's Exact tes, $p < 0,05$, CI 95%

C.2. Efusi pleura

Indeks efusi pleura / PEI pada hari 0 kelompok I lebih tinggi dibanding kelompok II. Pada hari 2 PEI meningkat pada kedua kelompok. Pada hari ke-7 perawatan. Efusi pleura hampir sudah tidak didapatkan lagi.



Gambar 16. Sebaran dan nilai tengah PEI menurut peningkatan aktivasi limfosit pada hari 0 dan 2

Pada hari perawatan 0, dari 50 penderita yang mengalami efusi pleura, terdapat 25 anak dengan $PEI \geq 6\%$. Peningkatan limfosit teraktivasi $> 4,5\%$ didapatkan pada 72% penderita ($p = 0,06$). Pada hari perawatan ke 2, terdapat 31 anak mengalami efusi pleura dengan $PEI \geq 6\%$, dimana 96,7% terdapat peningkatan aktivasi limfosit $> 4,5\%$. Pada hari 7, efusi pleura hanya didapatkan pada 3 penderita, dimana peningkatan aktivasi limfosit $> 4,5\%$ didapatkan pada 66,7% penderita.

Tabel 8. Hubungan aktivasi limfosit dengan $PEI \geq 6\%$

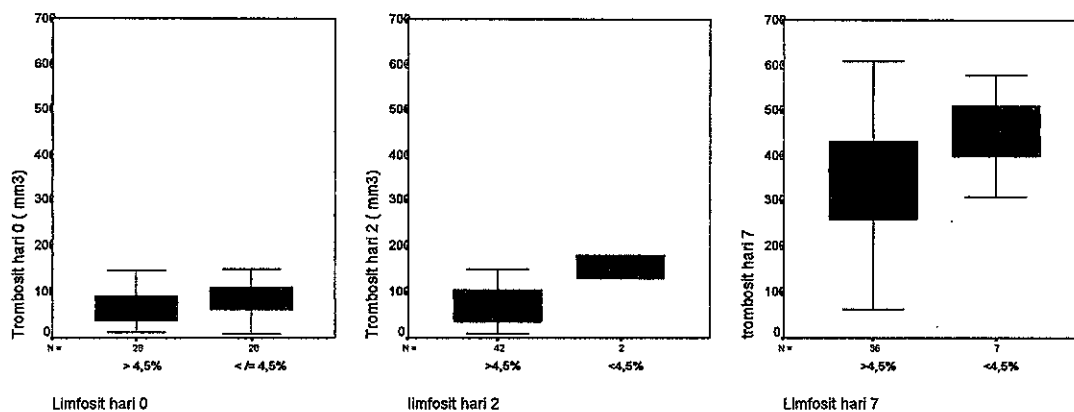
Aktivasi limfosit	Hari 0 (25 penderita)	Hari 2 (31 penderita)	Hari 7 (3 penderita)
$> 4,5\%$	18	30	2
$\leq 4,5\%$	7	1	1
p	0,06	1,00	0,56
RR	1,77	1,25	15,56
Interval kepercayaan	0,92-3,44	0,31-5,08	2,22-109

Fisher's Exact tes, $p < 0,05$, CI 95%

C.3. Trombosit

Trombositopeni masih didapatkan pada kelompok I sampai hari 2 perawatan.

Kadar trombosit hari 1,2 dan 7 kelompok I lebih rendah dibanding kelompok II.



Gambar 17. Sebaran dan nilai tengah kadar hematokrit menurut peningkatan aktivasi limfosit pada hari 0,2 dan 7

Pada hari perawatan 0, terdapat 17 penderita mengalami trombositopeni $< 100.000/\text{mm}^3$. Peningkatan limfosit teraktivasi $> 4,5\%$ didapatkan pada 82,4% penderita ($p < 0,05$). Pada hari 2 dari 17 penderita peningkatan aktivasi limfosit didapatkan pada semua penderita. Pada hari 7 pada kedua kelompok / sudah tidak didapatkan trombositopeni lagi.

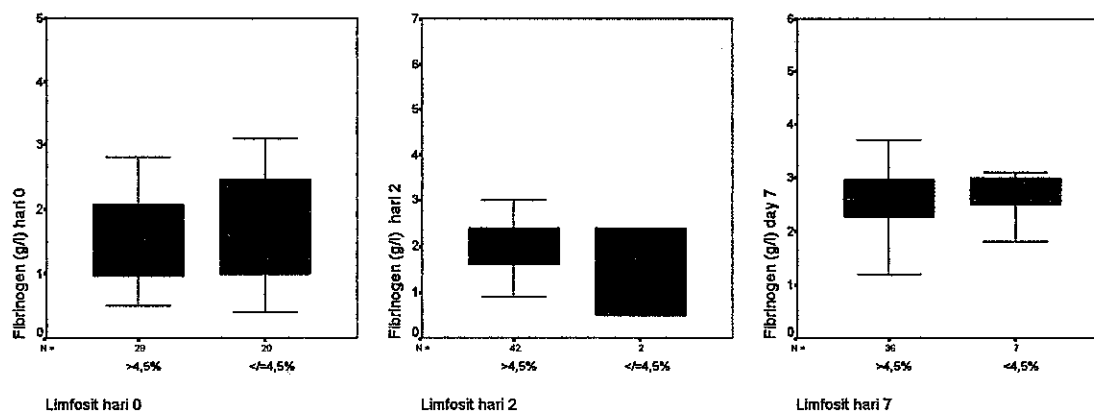
Tabel 9. Hubungan aktivasi limfosit dengan trombositopeni

Aktivasi limfosit	Hari 0 (17 penderita)	Hari 2 (17 penderita)
$> 4,5\%$	14	17
$\leq 4,5\%$	3	0
P	0,03	0,53
RR	3,11	
CI	1,02 – 9,45	

Fisher's Exact tes, $p < 0,05$, CI 95%

C.4. Koagulopati (fibrinogen)

Pada hari 0, kelompok I mengalami penurunan kadar fibrinogen lebih rendah daripada kelompok II dan berangsur-angsur kembali normal pada hari ke-7.



Gambar 18. Sebaran dan nilai tengah kadar fibrinogen menurut peningkatan aktivasi limfosit pada hari 0,2 dan 7

Pada hari 0, penurunan kadar fibrinogen sampai $< 1,8 \text{ g/L}$ didapatkan pada 28 penderita, dimana 70% nya adalah kelompok I ($p < 0,05$). Pada hari 2, dari 23

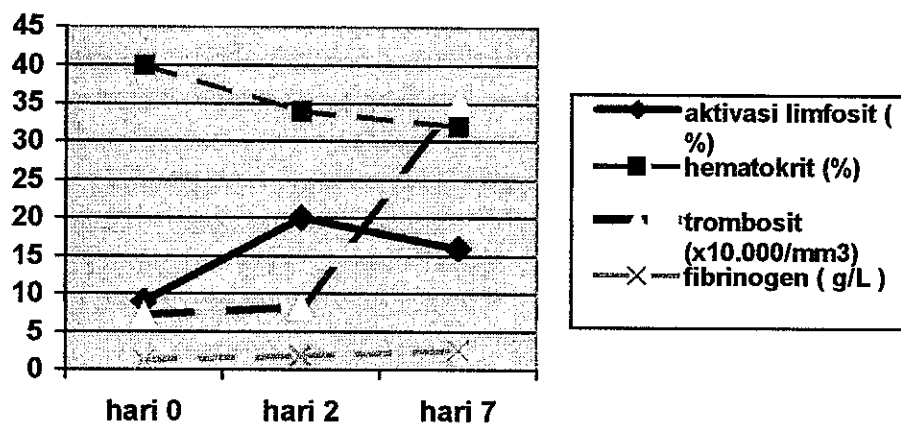
penderita yang mengalami penurunan fibrinogen 96% adalah kelompok I. Pada hari 7 hanya 4 anak dengan kadar fibrinogen masih kurang dari normal, dimana 50% dijumpai peningkatan aktivasi limfosit > 4,5%.

Tabel 10. Hubungan aktivasi limfosit dengan penurunan kadar fibrinogen

Aktivasi limfosit	Hari 0 (28 penderita)	Hari 2 (23 penderita)	Hari 7 (4 penderita)
> 4,5%.	19	22	2
≤ 4,5%	9	1	2
<i>p</i>	0,006	1,0	1,0
RR	0,36	0,96	1,5
CI	0,19-0,68	0,23-3,95	0,23-9,7

Fisher's Exact tes, $p < 0,05$, CI 95%

Secara keseluruhan hubungan aktivasi limfosit dengan berbagai parameter klinis menurut patogenesis DBD dilukiskan pada grafik berikut:



Gambar 19. hubungan aktivasi limfosit dengan kadar hematokrit, trombosit dan fibrinogen

BAB V

PEMBAHASAN

Pada populasi sampel, jumlah lelaki dan perempuan hampir sama banyak, dan tidak terdapat perbezaan jenis kelamin antara penderita SSD dan non SSD. Menurut umur, frekuensi SSD terbanyak (51,9%) berumur kurang dari 6 tahun. Berdasarkan status gizi, didapatkan 76% penderita berstatus gizi kurang dan 60% penderita dengan gizi lebih mengalami SSD sedang pada gizi baik hanya 25% yang mengalami SSD.

Sampel darah diambil pada hari perawatan ke 0, 2 dan 7, dengan asumsi bahwa hari 0 adalah hari saat fase akut dimana orang tua membawa anak berobat, sedang hari 2 adalah masa akhir fase akut. Pada penelitian ini rerata lama sakit pada hari perawatan 0 adalah hari 3-4. Hari 7 dianggap sebagai fase konvalesen / penyembuhan dimana respon imun sudah kembali normal. Sebanyak 48,1% penderita SSD datang pada hari ke-4 sakit, sedang pada non SSD terbanyak (34,8%) datang pada hari ke-2 sakit.

Jumlah absolut dan persentase limfosit di darah tepi dilaporkan berbeza-beza, tetapi limfositosis relatif dengan gambaran aktivasi limfosit selalu ditemukan dalam peredaran darah. Suvatte dan Longsaman (1979) melaporkan limfosit plasma biru (LPB) yang tinggi (20-50%) pada sedimen hapus buffycoat penderita DBD merupakan hal yang khas karena berbeza dengan infeksi virus lain dengan LPB hanya 0-10%.¹³ Soemarmo (1988) mendapatkan rerata LPB di darah tepi penderita DBD infeksi sekunder adalah 10-30%, 20,47% lebih tinggi secara bermakna dibanding penderita infeksi virus lainnya.⁸ Sutaryo (1991) menyebutkan bahwa limfosit reaktif dalam darah tepi merupakan salah satu petunjuk adanya sensitisasi oleh virus dengue, dan merupakan salah satu penunjang diagnosis DBD bila ditemukan dalam jumlah 4%.¹² Pada penelitian ini didapatkan rerata jumlah limfosit teraktivasi pada saat masuk (hari

0) adalah 3% pada non SSD dan 6% pada SSD. Dari Kurva ROC didapatkan, titik potong jumlah limfosit teraktivasi adalah 4,5% (RR 5,3 ; interval kepercayaan 95% 1,85-15,37).

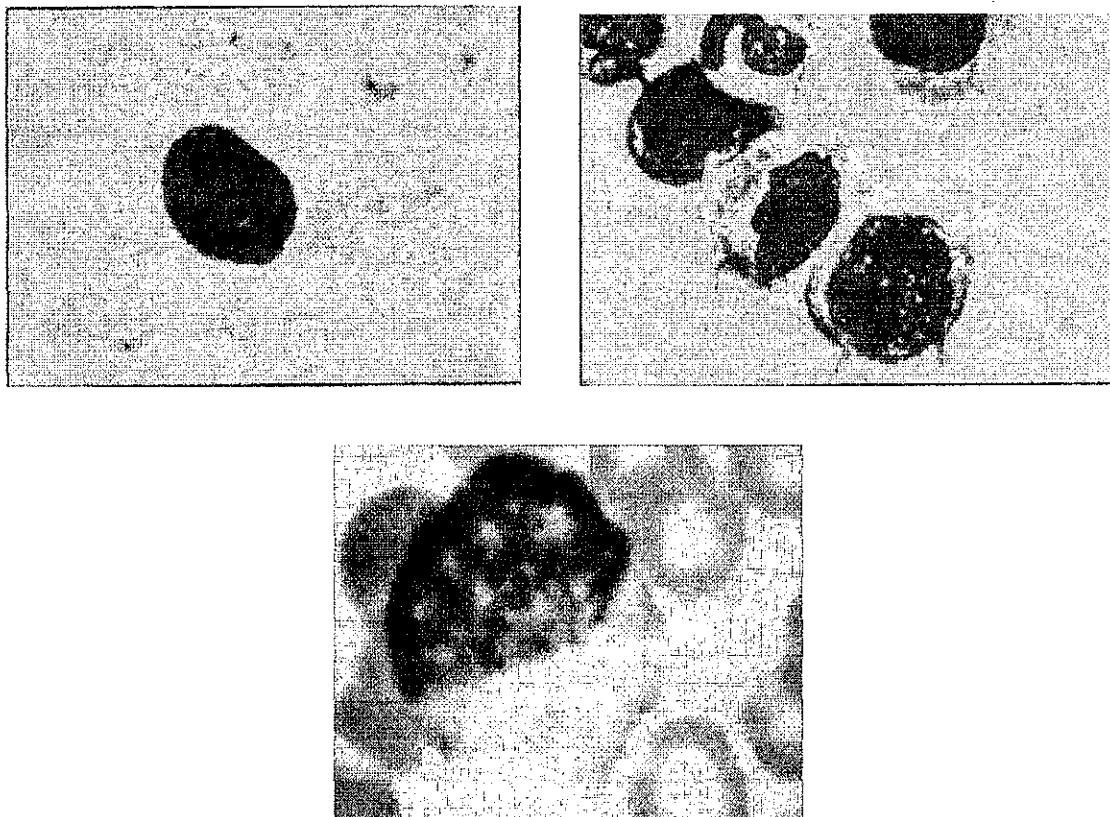
Peningkatan aktivasi limfosit tertinggi rata-rata didapatkan pada hari perawatan ke-2 (hari sakit ke-5-6) dan menurun pada hari perawatan ke-7 (hari sakit ke-10). Di hari perawatan ke-2, pada penderita SSD, limfosit teraktivasi tetap meningkat (89%), sedang pada sebagian penderita non SSD dijumpai aktivasi limfosit yang mulai menurun (17,4%). Pada hari perawatan ke-7 didapatkan penurunan aktivasi limfosit pada kedua kelompok. Aktivasi limfosit merupakan respon antibodi terhadap virus dengue. Tingginya aktivasi limfosit pada hari ke-5-6 sakit sesuai dengan hipotesis meningkatnya reaksi imunologis (*the immunological enhancement hypothesis*), yaitu terjadinya reaksi imunitas seluler bersamaan dengan hilangnya fase viremia diikuti meningkatnya kadar antibodi.^{8,20} Vaughn dkk dari Thailand mendapatkan bahwa kadar mediator kimia akibat aktivasi respon imun antara lain IFN γ meningkat secara signifikan pada DBD pada fase dini hari panas minus 1-2 . Kadar IFN γ tidak berbeda pada DBD dan demam dengue atau OFI setelah beberapa hari panas.²¹

Respon imun sangat dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya umur dan status gizi. Ditinjau dari umur dan status gizi pada penelitian ini terdapat kecenderungan terjadinya keparahan penyakit pada penderita usia muda dan penderita dengan gizi kurang. Peningkatan aktivasi limfosit >4,5% dijumpai pada 85,7% penderita SSD kelompok umur 3-6 tahun dan 83,8% pada kelompok 7-10 tahun ($p < 0,05$). Pada kelompok umur yang lebih besar (11-14 tahun) dijumpai peningkatan aktivasi limfosit >4,5% pada 60% penderita SSD tetapi tidak didapatkan hubungan bermakna. Kejadian DBD pada anak usia dini banyak dijumpai di daerah endemis. Beberapa penelitian di Thailand dan negara-negara di Asia tenggara lainnya menyebutkan bahwa anak-anak

beresiko tinggi terinfeksi DBD dibanding dewasa. Penelitian di Kuba mendapatkan umur spesifik terkena DBD berat adalah 7 bulan dan 3-5 tahun.²¹ Lubis (1977) seperti dikutip Soetaryo, 1991 mendapatkan bahwa umur yang paling peka untuk terkena infeksi DBD adalah kelompok 1-5 tahun.¹²

Menurut status gizi, terdapat perbedaan bermakna tingkat aktivasi limfosit pada SSD dan non SSD. Pada penderita dengan gizi baik, hanya 45% penderita mengalami peningkatan aktivitas limfosit, tidak setinggi penderita dengan gizi kurang (68%) atau gizi lebih (80%). Penderita gizi kurang yang mengalami SSD mempunyai resiko 2,5 kali terjadi peningkatan aktivasi limfosit > 4,5%. Aktivasi limfosit sebagai bagian dari sistem imun merupakan respon untuk mempertahankan tubuh dari serangan infeksi bakteri, virus dan lainnya. Aktivitas fungsional sel T berhubungan dengan kematangan sel, penurunan jumlah sel yang matang menyebabkan gangguan fungsi sel T. Penelitian tentang fungsi sel T pada penderita malnutrisi menunjukkan bahwa antigen dapat menginduksi proliferasi dengan respon bervariasi dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain infeksi kronis dan kadar mikronutrien tubuh seperti Zn dan Fe.²² Dalam hal ini apakah gizi kurang merupakan faktor resiko keparahan penderita DBD masih harus memperhatikan berbagai faktor. Sebaliknya apakah respon imun yang tidak berlebihan pada penderita dengan status gizi baik bersifat protektif terhadap terjadinya keparahan pada DBD pun masih memerlukan kajian lebih lanjut.

Sel T dan sel B akan mengalami aktivasi bila berikatan dengan antigen yang spesifik. Morfologi limfosit akan berubah sedemikian oleh rangsangan antigen tertentu (umumnya virus) menyebabkan perubahan intraseluler, sehingga ukuran, corak sitoplasma dan bentuknya berubah. Menurut bentuknya, gambaran limfosit yang teraktivasi dibedakan menjadi 3 yaitu monositoid, plasmositoid dan blastoid.^{19,23}



Gambar 20. Aktivasi limfosit bentuk blastoid (kiri atas), monositoid (kanan atas) dan plasmositoid (bawah)

Budiwiyono, dkk (1997) dalam penelitiannya yang tidak dipublikasi pada 45 kasus DBD menemukan hubungan bermakna antara bentuk aktivasi limfosit jenis monositoid dengan DBD derajat I dan limfosit non monositoid (plasmasitoid dan blastoid) dengan DBD derajat II.²⁴ Pada penelitian kami tidak didapatkan hubungan antara perubahan bentuk tertentu dengan perjalanan dan derajat penyakit ($p > 0,05$).

Aktivasi limfosit dalam hubungan dengan patogenesis DBD

Peningkatan aktivasi limfosit yang menggambarkan respon imunologik sangat menentukan pada patogenesis DBD. Kurrane dan Ennis mengemukakan bahwa aktivasi limfosit berperan penting. Aktivasi monosit dan sel T memicu dikeluarkannya sitokin dan

mediator-mediator kimia. Peningkatan cepat kadar mediator seperti TNF α , IL-2, IL-6, IFN γ , PAF, C3a, C5a dan histamin, merangsang terjadinya malfungsi sel-sel endotel pembuluh darah, menyebabkan terjadinya kebocoran plasma, syok dan gangguan sistim koagulasi dan menimbulkan manifestasi perdarahan.^{25,26,27} Pada pembahasan selanjutnya akan dikelompokkan penderita menurut tingkat aktivasi limfosit menurut kurva ROC, yaitu $>4,5\%$ (kelompok I) dan $\leq 4,5\%$ (kelompok II).

Pada hari perawatan 0, peningkatan aktivasi limfosit $>4,5\%$ didapatkan pada 76,9% penderita yang mengalami hemokonsentrasi. Green mendapatkan bahwa aktivasi limfosit T dan peningkatan kadar sitokin didapatkan lebih tinggi pada DBD dibanding demam dengue atau panas karena sebab lain (OFI) dan berhubungan dengan derajat kebocoran plasma.²⁸ Hal ini mendukung pendapat bahwa peningkatan permeabilitas vaskuler yang menyebabkan kebocoran plasma dan syok lebih dikarenakan efek mediator yang bekerja cepat (*short acting mediators*) yang diproduksi oleh respon imun daripada disebabkan oleh kerusakan struktural sel-sel endotel.²⁶ Pada hari perawatan 2, peningkatan aktivasi limfosit masih didapatkan pada 55,6% penderita dengan hemokonsentrasi ($p=0,07$). Pada hari 2, hematokrit pada kelompok I justru menurun lebih cepat dibanding kelompok II. Penurunan hematokrit selayaknya diwaspadai terutama bila tidak disertai perbaikan parameter klinis lainnya termasuk apabila didapatkan aktivasi limfosit yang masih meningkat. Lucy (Malaysia, 2002) menemukan bahwa kadar hematokrit yang normal-rendah pada penderita SSD justru merupakan faktor resiko terjadinya perdarahan yang berat.²⁹

Selain peningkatan hematokrit, bukti peningkatan permeabilitas vaskuler penderita DBD adalah adanya efusi pleura. Dalam hal ini foto dada yang normal belum dapat menyingkirkan adanya efusi pleura karena pemeriksaan ini masih kurang sensitif dibandingkan ultrasonografi. Pada hari 0 didapatkan perbedaan indeks efusi pleura (

PEI) dimana kelompok I mempunyai PEI lebih tinggi dibanding kelompok II, meskipun secara statistik kurang bermakna ($p = 0,06$) Pada hari 2 terdapat kenaikan PEI pada kedua kelompok. Peningkatan aktivasi limfosit $> 4,5\%$ didapatkan pada 96,8% dari 31 penderita yang mengalami efusi pleura $> 6\%$ ($p=0,15$). Pada hari 7 efusi pleura didapatkan pada 6% penderita. Vaughn dkk mendapatkan bahwa efusi pleura didapatkan pada 90% pasien DBD dengan PEI lebih tinggi bermakna dibanding demam dengue, serta berkorelasi dengan derajat penyakit. Mereka juga mendapatkan bahwa peningkatan aktivasi respon imun sehari setelah syok berhubungan dengan besarnya PEI.^{21,30}

Trombositopeni $< 100.000/mm^3$ pada hari 0 dijumpai pada 17 penderita, dimana 82,4% mengalami peningkatan aktivasi limfosit $> 4,5\%$ ($p= 0,02$). Aktivasi limfosit menyebabkan terbentuknya kompleks antigen antibodi yang memacu agregasi trombosit meningkatkan konsumsi trombosit. Selain itu terjadi penghancuran trombosit yang diperantarai oleh aktivasi komplemen melalui ikatan trombosit dengan fragment C3 dan ikatan trombosit dengan antigen virus.³⁰ Jumlah trombosit meningkat cepat pada fase konvalesen (7-10 hari sakit) seperti didapatkan pada populasi penelitian ini.

Kadar leukosit pada saat syok berhubungan erat dengan keparahan penyakit. Pada DBD, awalnya dijumpai leukosit normal atau meningkat dengan dominasi sel-sel netrofil. Pada akhir fase demam terjadi penurunan jumlah leukosit dan netrofil, dan kembali normal 2-3 hari kemudian²⁵. Pada tabel di atas terlihat rerata kadar leukosit pada kelompok I adalah $7.446/mm^3$ dengan rentang nilai $1.200/mm^3 - 43.000/mm^3$, lebih tinggi dibanding rerata pada kelompok II yakni $4.165/mm^3$ dengan rentang nilai $1.400/mm^3 - 7.800/mm^3$, tetapi secara statistik hubungan ini tidak bermakna ($p > 0,05$). Kalayanaroaj dan Nimmannitya menemukan bahwa rerata kadar leukosit penderita SSD lebih tinggi daripada non SSD dan makin tinggi leukosit makin berat komplikasi yang terjadi.³¹

Diketahui bahwa mekanisme perdarahan pada DBD merupakan akibat peningkatan konsumsi faktor-faktor koagulasi, antara lain ditandai oleh pemanjangan waktu koagulasi dan penurunan kadar fibrinogen dalam darah. Sistem koagulasi dan fibrinolisis mengalami aktivasi oleh infeksi dengue. Infeksi dengue memacu timbulnya aktivasi sel-sel endotel dan hepatosit menyebabkan apoptosis dan disfungsi dari sel-sel tersebut. Ketidak seimbangan aktivasi koagulasi dan fibrinolisis memacu timbulnya perdarahan pada DBD/SSD.³² Pada penelitian ini 19 dari 28 penderita dengan penurunan kadar fibrinogen pada hari 0 ternyata mengalami peningkatan aktivasi limfosit $> 4,5\%$ ($p < 0,05$).

Peningkatan aktivasi limfosit $> 4,5\%$ juga didapatkan pada 2 penderita yang meninggal dan semua penderita yang mengalami komplikasi yaitu pembekuan intravaskuler menyeluruh / PIM 100%, syok berulang 100%, syok yang sulit teratasi (*profound shock*) 75%, dan odem pulmo serta ensefalopati masing-masing 100%, tetapi hubungan ini kurang bermakna ($p > 0,05$).

Terdapat 2 penderita meninggal yaitu 1 anak perempuan 3,5 tahun dan 1 anak lelaki berumur 4 tahun 3 bulan, keduanya meninggal pada hari perawatan ke-2. Pada keduanya didapatkan jumlah limfosit teraktivasi sampai $> 25\%$ dengan dominasi bentuk blastoid dan monositoid.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

1. Pada penderita DBD dijumpai gambaran aktivasi limfosit di darah tepi berupa perubahan bentuk dan peningkatan jumlah limfosit teraktivasi. Jumlah limfosit teraktivasi meningkat lebih tinggi pada SSD dibandingkan non SSD ($p < 0,05$). Perubahan bentuk aktivasi limfosit terdiri dari monositoid, blastoid dan plasmositoid tetapi tidak didapatkan hubungan bermakna antara bentuk limfosit tertentu dengan derajat penyakit.
2. Didapatkan hubungan antara peningkatan aktivasi limfosit $> 4,5\%$ dengan beberapa parameter kelainan hemostasis ($p < 0,05$) pada hari 0 perawatan. Pada hari perawatan 2 dan 7 tidak didapatkan hubungan bermakna ($p > 0,05$).

SARAN

- ♦ Meskipun secara statistik didapatkan hubungan antara peningkatan aktivasi limfosit dengan beberapa parameter hemostasis, tetapi bahwa meningkatnya limfosit teraktivasi secara langsung menyebabkan kelainan pada parameter hemostasis tersebut kiranya masih banyak faktor lain yang belum diteliti.
- ♦ Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan marker aktivasi sel T untuk lebih mengetahui seberapa jauh aktivasi limfosit di darah tepi berperan pada patogenesis DBD.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hadinegoro SR, Soegijanto S, Wuryadi S, et all. Tatalaksana Demam Dengue/Demam Berdarah Dengue. DEPKES RI Dirjen Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan Pemukiman. Jakarta . 1999.
2. Rigau-Perez JG, Clark GG, Gubler DJ, Reiter P, Sanders EJ, Vorndam AV. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Lancet*. 1998; 352 : 971-7.
3. Hadinegoro SR. Immunopatogenesis Demam Berdarah Dengue. Dalam: Akib AA, Tumbelaka AR, Matondang CS. Pendekatan Immunologis Berbagai Penyakit Alergi & Infeksi. Bagian IKA FKUI. Jakarta. 2001: 41-57.
4. Simon MW. The Atypical Lymphocyte. *Int Pediatr*. 2003; 18(1): 20-2. On line: [URL] http://www.int.pediatrics.org/PDF/volume_18/18_1/20_22ip1803_WEB.pdf.
5. Suvatte V, Longsaman M. Diagnostic Value of Buffy Coat Preparation in Dengue Hemorrhagic Fever. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1979; 10(1) : 7-12.
6. Leangpibul P, Thongcharoen P. Clinical Laboratory Investigations. Dalam: WHO. Monograph on Dengue/Dengue Hemorrhagic Fever. WHO. New Delhi. 1993: 62-70.
7. Liu TC, Chan YC, Han P. Lymphocyte Changes in Secondary Dengue Fever . *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1991; 22(3) : 332-6.
8. Soedarmo PS. Demam Berdarah Dengue di Indonesia dan Dunia, Situasi Sekarang dan Harapan Masa Mendatang. Dalam: Samsi KT, Ruspandji T, Setiawan J, dkk. Simposium Tiga Dekade Demam Berdarah di Indonesia. Bagian IKA RS Sumber Waras. Jakarta. 1997.
9. WHO. Dengue Haemorrhagic Fever, Diagnosis, Treatment, prevention and Control. Edisi ke-2. Geneva. 1997.

10. Jatanasen S, Thongcharoen P. Dengue Haemorrhagic Fever in South East Asian Countries. In: WHO. Monograph on Dengue/Dengue Hemorrhagic Fever. WHO. New Delhi. 1993: 23-37.
11. Juffrie M, Haasnoot K, Thijs LG. Dengue Virus Infection and Dengue Hemorrhagic Shock. *Critical Care And Shock*. 2000 ; 3(3) : 130-47.
12. Sutaryo. Limfosit plasma biru. Arti diagnostik dan sifat imunologik pada infeksi Dengue. Jogjakarta. UGM, 1991: 38-59.
13. Bhamarapravati N. Pathology of Dengue Heaemorrhagic Fever. In: WHO. Monograph on Dengue/Dengue Hemorrhagic Fever. WHO. New Delhi. 1993:72-8.
14. Halstead SB. Pathophysiology and Pathogenesis of Dengue haemorrhagic Fever. In: WHO. Monograph on Dengue/Dengue Hemorrhagic Fever. WHO. New Delhi. 1993: 80-98.
15. Kurane I, Ennis FA. Immunity and Immunopathology in Dengue Virus Infection. *Immunologi*. 1992; 4: 121-7.
16. Rahayu FA. Patogenesis Demam Berdarah Dengue: Suatu Tinjauan Mengenai Sel Target Virus Dengue. *Medika*. Mei 2000.
17. Green S, Pichyangkul S, Vaughn DW, et all. Early CD 69 Expression on peripheral Blood Lymphocytes from Children with Dengue Hemorrhagic Fever. *J Infect Dis* 1999; 180(5) : 1429-35.
18. Sastroasmoro S, Ismael S. Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis. Binarupa Aksara. Jakarta: 1995.
19. Laboratorium Klinik PRODIA. Limfosit Besar dan Kecil. Manado. 2000. On line [URL]: <http://www.prodia.net/prohema.10.html>.
20. Soegijanto S. Aspek Imunologi Penyakit Demam Berdarah Dengue. Dalam: Naskah lengkap PKB IKA, Penatalaksanaan Gawat Darurat di Bidang Infeksi. Banjarmasin. 2002.

21. Guzman MG, Kouri G. Dengue: An Update. *The Lancet Infectious Diseases*. 2002 (2): 33-42.
22. Keusch. Malnutrition, Infection and Immune Function. Dalam : Suskind RM, Suskind LL. *The Malnourished Child*. Raven press. USA. 1990:37-60.
23. Simon. MW. The Atypical Lymphocyte. *International Pediatrics*. 2003: 18(1). On line [URL]: http://www.int.pediatrics.org/PDF/volume_18/18_1/20?22ip1803_WEB.pdf
24. Budiwiyo I, Lisyani S, Pradono AP, Sutrisno B. *Bentuk Limfosit Reaktif Darah Tepi Pada Demam Berdarah Dengue*. Lab/UPF Patologi Klinik FK UNDIP/RSUP DR Kariadi. Semarang. 1997.
25. Kurane I, Rothman AL, Livingston PG, Green S, Gagnon SJ, Janus J, et al. Immunopathologic mechanism of dengue hemorrhagic fever and dengue shock syndrome. *Arch Virol*. 1994; 9: 59-64.
26. Nimmannitya S. *Dengue Hemorrhagic Fever: Disorders of Hemostasis*. Thailand. 1999: 184-7. Simon. MW. The Atypical Lymphocyte. *International Pediatrics*. 2003: 18(1). On line [URL]:
27. Alamgir MSA. *Of Vaccines Against Dengue Hemorrhagic Fever*. Bangladesh press on Dengue. 2002. On line [URL]: http://www.geocities.com/prevent_dengue/bpress02/indsep.
28. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innos LB, Nimmannitya S, Suntayakorn S, et al. Dengue Viremia Titer, Antibody Respon Pattern, and Virus Serotype Correlate with disease Severity. *The Journal of Infectious Diseases*. 2000; 181: 2-9. On line [URL]: <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v181n1/>.
29. Lucy CSL, Adrian YTG, Patrick WKC, Latief AMA, Lam SK. Risk Factor for Hemorrhage in Severe Dengue Infections. *J Pediatr*. 2002; 140: 629-31.

30. Kalayanarooj S, Nimmannitya S. Clinical and Laboratory Presentations of Dengue Patients with Different Serotypes. WHO Colaborating Centre for Case Management of DHF/DSS. 2002.
31. Green S, Vaughn DW, Kalayanarooj S, Nimmannitya S, Suntayakorn S, Nisalak A, et al. Early Immune activation in acut Dengue Illness is Related to Development of Plasma Leakage and Disease Severity. The Journal of Infectious Diseases. 1999; 179: 755-62. On line [URL]: <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v179n4/980942>.
32. Lei HY, Yeh TM, Liu HS, Lin YS, Chen SH, Liu CC. Immunopatogenesis if Dengue Virus Infection. Journal of Biomedical Science. 2001; 8: 377-88. On line [URL]: <http://content.sagepub.com/productsDB/produkte.asp>